

Ramona Cristina do Prado Freiberg

**UTILIZAÇÃO DE ÁCIDOS ORGÂNICOS COMO
CONSERVANTES EM LINGUIÇAS CURADAS COZIDAS
EMBALADAS À VÁCUO**

Dissertação submetida ao Programa de
Pós Graduação em Ciência dos
Alimentos da Universidade Federal de
Santa Catarina para a obtenção do
Grau de mestre em Ciência dos
Alimentos

Orientador: Prof. Dr. Ernani Sebastião
Sant Anna.

Florianópolis
2016

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Prado Freiburger, Ramona Cristina

Utilização de ácidos orgânicos como conservantes em linguiças curadas cozidas embaladas à vácuo / Ramona Cristina do Prado Freiburger; orientador, Ernani Sebastião Sant Ann - Florianópolis, SC, 2016.

77 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos.

Inclui referências

1. Ciência dos Alimentos. 2. Ácidos Orgânicos. 3. Linguiças Cozidas. 4. Bactérias Ácido Láticas. I. Sant Anna, Ernani Sebastião. II. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos. III. Título.

Ramona Cristina do Prado Freiburger

**UTILIZAÇÃO DE ÁCIDOS ORGÂNICOS COMO
CONSERVANTES EM LINGUIÇAS CURADAS COZIDAS
EMBALADAS À VÁCUO**

Esta Dissertação foi julgada adequada para obtenção do Título de “Mestre”, e aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos.

Florianópolis, 25 de abril de 2016.

Prof^a. Roseane Fett, Dr^a.
Coordenador do Curso

Banca Examinadora:

Prof. Ernani Sebastião Sant Anna
Orientadora
Universidade UFSC

Prof. Juliano De Dea Lindner, Dr.
Universidade UFSC

Prof. Cesar Damian, Dr.
Universidade UFSC

Prof. Paulo Rogério Franchin, Dr.
Universidade UNOESC

Dedico à minha querida família..

AGRADECIMENTOS

À Deus, por me proporcionar equilíbrio nos momentos de ansiedade e pela vida!

Ao meu esposo, Eduardo Freiburger, pelo respeito, amor, dedicação e ajuda neste momento tão importante.

Aos meus filhos Pedro e Francisco que na sua inocência e pureza foram parte fundamental para conquista deste sonho, me dando força e coragem para seguir em frente.

À minha família, pelo carinho comigo e com meus filhos, em especial à minha mãe por me auxiliar em todos os momentos, me ajudando a ter força e determinação no termino da minha pesquisa.

Ao meu orientador, Dr. Ernani Sebastião Sant Anna, pela confiança e apoio.

Ao Doutor e pessoa, Paulo Rogério Franchin, que com sua grande experiência me auxiliou em cada passo de todo estudo.

Ao Professor Roberto Degenhardt, que com sua sabedoria me mostrou o melhor caminho para o desenvolvimento da pesquisa.

A BRF S.A, que me permitiu dar continuidade aos estudos, em especial a colaboração dos laboratórios.

Aos meus colegas de Mestrado pela ajuda que me deram quando necessitei.

Ao Sérgio de Souza sempre tão prestativo, obrigada pelo auxilio prestado.

Em fim, a todos que estiveram me apoiando nesta importante conquista gostaria de manifestar a minha mais profunda gratidão!

RESUMO

UTILIZAÇÃO DE ÁCIDOS ORGÂNICOS COMO CONSERVANTES EM LINGUIÇAS CURADAS COZIDAS EMBALADAS À VÁCUO

As linguiças curadas cozidas embaladas à vácuo possuem um tempo de vida determinado pela indústria de 90 dias, porém o produto sofre deterioração no decorrer da vida de prateleira, ocasionando manifestações de clientes e devoluções do produto. O principal objetivo deste artigo é a avaliação da vida de prateleira deste produto, conservado em temperatura ambiente, sendo testado um conservante diferenciado como uma possível forma de controle da contaminação microbiana superficial do mesmo. Para isso utilizou-se uma mistura comercial de ácidos orgânicos com a função de regulador de acidez, o qual contém os ácidos láurico, cítrico, láctico, acético, ascórbico e seus sais de ácidos graxos. Esse foi pulverizado sobre as linguiças, em seguida embaladas a vácuo e avaliadas quanto às características físico-sensoriais de cor, odor e aparência, bactérias lácticas e pH. Características físico-sensoriais diferentes do padrão definido para o produto, como perda de vácuo, diferença de coloração ou presença de *slime* (líquido liberado pelo produto que se torna viscoso e esbranquiçado pela presença de bactérias ácido lácticas), foram estabelecidas como cruciais para abertura da embalagem e posterior avaliação de bactérias lácticas e pH do produto. Os critérios utilizados para determinar que o produto se apresentava impróprio para consumo foram: presença de *slime*, pH < 6,2 e contagem de bactérias lácticas > 10⁶ UFC/g. Através do modelo probabilístico de Weibull foram comparados T1 (produto com o conservante de superfície, composto pelo regulador de acidez) e T2 (produto sem adição do regulador de acidez). Alcançando resultados positivos para T1, onde 41,3% dos pacotes ainda estavam íntegros e aceitáveis após 90 dias, tendo algumas amostras alcançado 187 dias de validade, apresentando-se físico-sensorialmente e microbiologicamente de acordo com o produto padrão. Enquanto que para T2 apenas 7,6% das amostras tiveram sobrevivência acima de 90 dias.

Palavras-chave: Linguiças cozidas, ácidos orgânicos, bactérias lácticas.

ABSTRACT

USE OF ORGANIC AS PRESERVATIVES IN COOKED CURED SAUSAGES VACUUM PACKED

The cured cooked sausages vacuum packed have a given life span by 90 days industry, but the product deteriorates during the shelf life, resulting in manifestations of customers and product returns. The main purpose of this article is to evaluate the shelf life of this product, stored at room temperature and tested a different preservative as a possible way to control microbial contamination of the surface of it. For this we used a commercial mixture of organic acids with acidity regulator function, which contain lauric, citric, lactic, acetic, ascorbic acid and its salts of fatty acids. This was sprayed on the sausages, then vacuum packed and evaluated for physical and sensory characteristics of color, odor and appearance, lactic acid bacteria and pH. different physical and sensory characteristics of the pattern defined for the product, such as loss of vacuum, color difference, or the presence of slime (liquid released by the product becomes sticky and whitened by the presence of acid bacteria lactic acid) have been established as a key for opening the packaging and subsequent evaluation of lactic acid bacteria and pH of the product. The criteria used to determine that the product is presented unfit for consumption were: slime presence, pH <6.2, Lactic bacteria count > 10^6 UFC/g. Through the Weibull probability model were compared T1 (product surface preservative, comprising the acidity regulator) and T2 (a product without the addition of acidity regulator). Achieving positive results for T1, where 41.3% of the packages were still intact and acceptable after 90 days, with some samples reached 187 days of validity, performing physical and sensory and microbiologically according to the standard product. While only 7.6% for T2 samples were survival over 90 days.

Keywords: cooked sausages, organic acids, lactic acid bacteria.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Vias de fermentação da glucose. (A) Via homofermentativa e (B) Via heterofermentativa.	33
Figura 2. Estrutura molecular do ácido láurico	37
Figura 3. Estrutura molecular do ácido cítrico	38
Figura 4. Estrutura molecular do ácido láctico e acético	41
Figura 5. Estrutura Molecular ácido ascórbico	42
Figura 6. Etapa de cozimento das linguiças	45
Figura 7. Linguiça com regulador de acidez.....	46
Figura 8. Fluxograma do processo das linguiças curadas cozidas embaladas à vácuo.....	47
Figura 9. Amostra padrão	51
Figura 10. Amostra com defeito: <i>slime</i>	51
Figura 11. Amostra com defeito: perda de vácuo e estufamento do pacote	52
Figura 12. Amostra com defeito: diferença de coloração	53

LISTA DE QUADRO E TABELAS

Tabela 1. Características físico químicas das linguiças cozidas	25
Tabela 2. Grupos de bactérias lácticas de acordo com o seu tipo de fermentação	31
Quadro 1. Esquema de coleta de amostras.....	49
Tabela 3. Resultados microbiológicos, físico-químicos e físico- sensoriais das amostras de linguiças curadas cozidas embaladas à vácuo.	56
Tabela 4. Resultados gerados para T1 e T2 de acordo com os Parâmetros Estatísticos de Weibull	65

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

BAL - Bactérias ácido lácticas

Aw - Atividade de Água (do inglês “Water activity”)

°C - Graus Célsius

pH - Potencial hidrogênionico

UFC - Unidade Formadora de Colônia

CMS - Carne mecanicamente separada

AOAC - Association of Official Analytical Chemistry

NaCl - Cloreto de Sódio

GRAS - Geralmente reconhecidos como seguros

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	21
1.1 OBJETIVOS	23
1.1.1 Objetivo Geral	23
1.1.2 Objetivos Específicos	24
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	25
2.1 LINGUIÇAS CURADAS COZIDAS EMBALADAS À VÁCUO	25
2.2 BACTÉRIAS ÁCIDAS LÁTICAS	30
2.3 USO DE ÁCIDO ORGÂNICOS COMO CONSERVANTES	35
2.3.1 Ácido Laurico	37
2.3.2 Ácido Cítrico	38
2.3.3 Ácido Láctico e Acético	39
2.3.4 Ácido Ascórbico	41
3 MATERIAIS E MÉTODOS	43
3.1 DELINEAMENTO DO TRABALHO	43
3.1.1 Conservantes de superfície utilizados na pesquisa	43
3.2 PREPARAÇÃO DAS LINGUIÇAS	44
3.2.1 Matérias primas e ingredientes	44
3.2.3 Elaboração das linguiças curadas cozidas	44
3.2.4 Procedimento para avaliação dos testes	48
3.2.5 Ensaios microbiológicos	49
3.2.6 Ensaios físico-químicos	50
3.2.7 Ensaios físico-sensoriais	50
3.2.8 Análise estatística	53
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	55
4.1 PARAMETROS MICROBIOLÓGICOS E FÍSICO-QUÍMICOS	55
4.2 ANÁLISE ESTATÍSTICA DE SOBREVIVÊNCIA	64
5 CONCLUSÃO	67
REFERÊNCIAS	69

INTRODUÇÃO

O Brasil é o quarto maior produtor mundial de suínos, e o quarto maior mercado exportador. Do montante destinado ao mercado interno, 89% da produção é utilizada em produtos industrializados, dados do ano de 2014 apresentados pela Associação Brasileira da Indústria Produtora e Exportadora de Carne Suína (ABIEPCS, 2015). O destaque no processamento da carne é a agregação de valor ao produto com a utilização de cortes que não são aproveitados para o consumo *in natura*, gerando alternativas para a sua comercialização (BENEVIDES; NASSU, 2013), porém a complexidade do processamento dos produtos cárneos, e a necessidade de aumentar o período de armazenamento, tornam o produto muito vulnerável à deterioração (SCHWERT, 2014).

Os alimentos cárneos são produtos bastante susceptíveis a alterações de ordem físico-química, microbiológica e sensorial devido a sua quantidade de umidade, proteínas, gorduras e outros nutrientes. Entre estas alterações, a oxidação lipídica e a oxidação de pigmentos são difíceis de serem controladas devido a sua complexidade e variabilidade podendo ser potencializada pela ação de microrganismos (SCHWERT, 2014). Os microrganismos e a maioria de suas células vegetativas são eliminados com o processo térmico, os produtos cárneos cozidos curados são produtos aquecidos a temperaturas de 65-75°C, porém após o tratamento térmico estão expostos a re-contaminação provinda do ambiente produtivo e do excesso de manipulação do produto (VERMEIREN et al, 2004).

Devido à re-contaminação as linguiças curadas cozidas sofrem com o problema de deterioração superficial e alterações organolépticas, já que estas são conservadas em temperatura ambiente e são muito manipuladas em seu processamento. As Bactérias Ácido Láticas (BAL) têm sido apontadas como principais responsáveis pela deterioração de linguiças e salsichas cozidas embaladas à vácuo, caracterizando como principais defeitos sensoriais a fermentação, aroma e sabor azedo do alimento (KORKEALA et al, 1989). Estas alterações ocorrem nas linguiças cozidas por possuírem como característica baixa acidez ($\text{pH} > 6$), alta atividade de água (0,98 a 0,99) e, geralmente, baixo teor de sal ($< 2\%$), peculiaridades que não detém a capacidade de inibir a multiplicação de bactérias deteriorantes (CAMARGO, 2011).

A presença das bactérias deteriorantes é indicativa da possibilidade de alteração da qualidade do produto final. A atividade

metabólica das BAL provoca a deterioração dos produtos cárneos embalados a vácuo (MATAGARAS et al, 2007). As BAL são identificadas como a maior população deteriorante das linguças cozidas embaladas a vácuo, elas se desenvolvem facilmente após o seu processamento térmico e também em temperaturas de refrigeração, levando a percepção de gosto azedo, exsudado leitoso, produção de *slime* e estufamento da embalagem (MARTINS, 2009; MATAGARAS et al., 2007).

Devido aos fatores relacionados acima como pH, sal, atividade de água e ainda a presença de BAL, associados à produtos embalados à vácuo, é essencial que a indústria alimentícia desenvolva medidas de controle de segurança microbiológica até o final da vida de prateleira do produto (MARTINS, 2009). Com este propósito a utilização de aditivos alimentares aumentou significativamente na produção de alimentos processados, que muitas vezes são acrescidos de conservantes para inibir o desenvolvimento de microrganismos, manter o valor nutricional, a qualidade e prolongar a vida de prateleira do alimento (DING et al, 2015).

Neste sentido os conservantes e os agentes antimicrobianos têm um papel importante na promoção de alimentos quimicamente estáveis e seguros. Com o aumento do consumo de alimentos que tornem o dia a dia mais prático e a vida de prateleira razoavelmente longa, exigida pelas cadeias de distribuição, é imprescindível o uso de conservantes em alimentos processados (ALMEIDA, 2011). Com a função de conservante, os ácidos orgânicos aplicados nas linguças curadas cozidas são utilizados como reguladores de acidez pela sua característica de controle da atividade água e atividade antimicrobiana no produto, devido à ação dos ácidos graxos presentes em sua formulação, proporcionando um aumento na vida de prateleira do produto (ALMEIDA, 2011).

A inclusão de ácidos orgânicos e seus sais na formulação de produtos prontos para consumo têm sido estudada e tem se mostrado muito eficaz (ZDANSK, 2011). Entretanto a forma usual de conservação destas linguças é a pasteurização na embalagem, este processo térmico destrói apenas parte das células vegetativas dos microrganismos presentes no alimento, pois são utilizadas temperaturas abaixo de 100°C. A associação da refrigeração é primordial para garantir a conservação do produto nestes casos, porém não há como garantir que não haverá falhas na cadeia de comercialização (OETTERER et al, 2006).

Durante a comercialização os alimentos passam pelas etapas de estocagem e distribuição onde são expostos frequentemente a condições ambientais, como temperatura, umidade, oxigênio e luz. Estas condições podem disparar muitos mecanismos de reações que podem ter ligação com a degradação dos alimentos. Em consequência destes mecanismos, os alimentos podem ser alterados a tal extensão que poderão ser rejeitados pelo consumidor ou podem se tornar prejudiciais às pessoas que os consomem (MAN; ADRIAN, 2001).

Atualmente no Brasil, há um significativo aumento do número de manifestações de consumidores deste produto em períodos mais quentes do ano, relatando presença de *slime* na superfície do mesmo, coloração esverdeada, fermentação, alteração de cor e perda de vácuo da embalagem (DAUDT, 2013; MERGEN, 2004). Esta situação está atrelada ao fato de as linguças curadas cozidas embaladas à vácuo serem armazenadas em temperatura ambiente, serem mal conservadas nas redes de distribuição, aonde ocorrem também muitos casos de embalagem danificada e possuírem prazo de validade estabelecido em 90 dias (DAUDT, 2013; MERGEN, 2004).

Estes fatores interferem diretamente na preservação das características originais do produto, ocasionando grande perda econômica para a indústria com a devolução e ressarcimento aos clientes (DAUDT, 2013).

Tendo em vista o problema da deterioração e perecibilidade das linguças curadas cozidas embaladas à vácuo, o presente trabalho busca a avaliar a vida de prateleira deste produto, sendo testados ácidos orgânicos diferenciados com função de reguladores de acidez como uma possível forma de controle da contaminação microbiana superficial do mesmo.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo Geral

O presente trabalho possui como objetivo principal avaliar o tempo de vida útil das linguças curadas cozidas embaladas à vácuo, testando ácidos orgânicos diferenciados como uma possível forma de controle da contaminação microbiana superficial do produto.

1.1.2 Objetivos Específicos

- ✓ Quantificar as bactérias ácido lácticas presentes no produto;
- ✓ Realizar análise físico-sensorial da aparência do produto;
- ✓ Avaliar parâmetros físico-químicos e microbiológicos do produto;
- ✓ Testar a eficácia dos ácidos orgânicos diferenciados aplicados na superfície do produto.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 LINGUIÇAS CURADAS COZIDAS EMBALADAS À VÁCUO

Os embutidos são produtos resultantes da necessidade de aproveitamento da carne fresca e/ou congelada (SCHWERT, 2014). São obtidos a partir do processo de moagem da carne em uma granulometria que varia de grossa a fina, conforme o tipo de produto (BENEVIDES; NASSU, 2013). As linguiças são embutidos que estão entre os produtos processados mais antigos e tradicionais, ainda com ampla aceitação e consumo (SCHWERT, 2014).

Na fabricação de linguiças as carnes e o toucinho são moídos, normalmente, em disco de 8 mm e transportados até a misturadeira onde receberão as demais matérias-primas e ingredientes. Concluída a mistura, a massa é embutida em tripa natural ou artificial, atada em gomos com o tamanho característico (TERRA, 1998).

A matéria-prima das linguiças cozidas conforme IN nº4 do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2000) é basicamente composta de carne de diferentes espécies de animais de açougue, carnes mecanicamente separadas (CMS), pele, gordura e alguns ingredientes opcionais como: água, proteína vegetal, aditivos intencionais, açúcares, aromas, especiarias e condimentos. Para elaboração das linguiças devem ser respeitadas as características físico químicas conforme Tabela 1.

Tabela 1. Características físico químicas das linguiças cozidas

Característica	Limite
Umidade	Máx 60%
Gordura	Máx 35%
Proteína	Min 14%
Cálcio (base seca)	Min 0,3%

Fonte: BRASIL (2000).

Na produção de embutidos, as carnes são as principais matérias primas, podem ser de origem bovina, suína, de frango, entre

outras. Para serem classificados como carne, os tecidos devem estar constituídos do músculo estriado esquelético, os diferentes tecidos animais variam no conteúdo de água, gordura, proteína e pigmentos. As proteínas miofibrilares, apresentam propriedades emulsionantes, quando são acrescentadas carnes magras torna-se necessário a adição de agentes espessantes e colágeno para balancear a formulação de forma que a relação colágeno/miofibrilares tenham proporções equilibradas de modo a evitar defeitos posteriores no produto (PRICE; SCHWEIGERT, 1994). Em relação ao colágeno, altas quantidades presentes na carne apresentam influência negativa nas características tecnológicas e nutricionais, o colágeno apresenta baixo fator nutricional, pois é deficiente em aminoácidos (TRINDADE et al, 2004).

A qualidade da carne utilizada na fabricação de embutidos depende de um conjunto de fatores, como valor nutricional, segurança e aspectos sensoriais. A cor vermelha das carnes depende da concentração e da oxidação dos pigmentos mioglobina, oximioglobina e metamioglobina, presentes nos músculos (BENEDETTI et al, 2011). Fatores intrínsecos e extrínsecos podem influenciar a alteração da cor da carne, tais como: sexo, raça, idade e metabolismo do animal, antioxidantes endógenos, tipo de músculo, temperatura do meio, pH, disponibilidade de oxigênio, tipo de luz a que são expostos, embalagem utilizada e microrganismos presentes (BENEDETTI et al, 2011).

Utilizada também como matéria prima a carne mecanicamente separada (CMS) é acrescentada na formulação de embutidos submetidos ao cozimento, sua composição pode variar conforme o tipo de matéria-prima incorporado na fabricação do produto (TERRA et al, 2004). Entende-se por carne mecanicamente separada (CMS), a carne residual produzida através de equipamentos próprios do tipo desossadores mecânicos, utilizando como matérias primas partes de frango ou suíno, principalmente as de baixo valor comercial, como o dorso, pescoço e espinhaço, resultando em uma matéria-prima de baixo custo (SARMENTO, 2006).

A separação mecânica basicamente envolve trituração da carne e ossos, forçando a carne a passar por peneiras para que ocorra a separação. Este processo altera a composição da matéria-prima original, resultando em material com maiores teores de gordura e minerais. Isso se deve em grande parte à incorporação de lipídeos e pigmentos *heme* existentes na medula óssea e na camada de gordura subcutânea, cálcio e fósforo proveniente das partículas ósseas (SARMENTO, 2006).

Devido às suas características, textura pastosa, fina e uniforme, seu uso é limitado nos produtos que requerem granulometria

maior ou com textura mais fibrosa, sua utilização é permitida apenas em produtos cárneos industrializados cozidos, ao limite máximo de 20%, conforme legislação brasileira (SARMENTO, 2006).

A gordura é utilizada como matéria prima de grande importância nas linguiças, é a fração entre os componentes básicos da carne (umidade, proteínas, cinza) mais variável do ponto de vista quantitativo como qualitativo. Ela se deposita principalmente em cavidade corporal, zona subcutânea, inter e intramuscular. Esses depósitos desempenham um metabolismo energético e sua distribuição tem relação direta com a palatabilidade (BARROS, 2011).

A gordura está diretamente relacionada ao sabor, aroma e textura dos embutidos. É composta por diferentes ácidos graxos, cujos graus de instauração respondem pelo seu comportamento. Aumentando a proporção de ácidos graxos insaturados, reduz-se a temperatura de fusão da gordura animal, liquefazendo-se a temperatura ambiente. A gordura utilizada na elaboração de embutidos é principalmente da região dorsal (toucinho), na qual a relação entre ácidos graxos saturados e insaturados permite o seu estado sólido, à temperatura ambiente (BARROS, 2011).

Na formulação das linguiças curadas cozidas utiliza-se também como ingrediente nitrato e nitrito. Estes conservantes têm a finalidade de fixar cor, aroma, sabor, garantindo um maior tempo de armazenamento das carnes curadas, além de servir como antimicrobiano (CARNICER ET AL, 2013).

Esses aditivos podem formar a reação óxido nítrico (NO) quando utilizados como agentes intencionais na mistura do processo e no aquecimento da carne curada em pH ácido. O óxido nítrico é derivado do ácido nitroso (HNO_2), em contato com os pigmentos hemo da carne desenvolve fixação da cor, além de determinar as reações químicas como a conversão de nitrato de sódio em nitrito de sódio (CARNICER et al, 2013).

O nitrato e o nitrito de sódio ou potássio são associados ao processo da cura (maturação) dos produtos cárneos embutidos, desenvolvendo o aspecto sensorial, fixando cor rósea e garantindo o sabor apropriado no alimento. Além disso consegue atuar como inibidor antimicrobiano impedindo o crescimento da bactéria *Clostridium botulinum* e seus esporos, causadores do botulismo (CARNICER et al, 2013).

O sal e o açúcar bem como o nitrito e nitrato também são utilizados como conservadores nas linguiças, estes produtos não são considerados aditivos, porém tem função tecnológica importante. O

mais importante destes produtos é o sal, cloreto de sódio, pois é único componente totalmente indispensável na conservação de carne, é um agente que reforça o sabor das demais especiarias e auxilia na conservação do produto, agindo tanto pela retirada de água, como pela redução do teor de água livre. Finalmente, o sal extrai as proteínas solúveis da carne, tornando-as disponíveis como emulsificantes (GUERREIRO, 2006).

Ao lado do sal, o açúcar é tradicionalmente usado nos embutidos e serve para abrandar o sabor do sal e dos polifosfatos. Apesar dos baixos teores usados em geral, o açúcar reduz também o teor de água livre e inibe o crescimento de microrganismos. Além do açúcar são usados hidrolisados de amido (glicose líquida) e a própria glicose. O açúcar e similares podem combinar-se com proteínas, durante o aquecimento, dando origem a produtos de coloração marrom, esta característica e o sabor são fatores limitantes para o uso destes produtos (GUERREIRO, 2006).

O fosfato utilizado nas linguiças também é conhecido como emulsificante. Logo após o abate do animal, a carne tem uma capacidade ótima de retenção de água. Após a morte, com o desenvolvimento do *rigor mortis*, a carne perde esta capacidade, mas para a produção de embutidos ele deve ser recuperada, este processo é revertido pela adição de sal e fosfato. Uma boa retenção de água evita a separação da gelatina e da gordura, facilitando a formação da emulsão (GUERREIRO, 2006).

Após preparada, a massa da linguiça cozida passa pelo processo de embutimento, a massa cárnea é acondicionada em envoltórios/tripas, naturais ou artificiais, a fim de proteger os produtos de influências externas, além de lhe dar forma e estabilidade, estes podem ser derivados do colágeno, celulose e plástico (BENEVIDES; NASSU, 2013).

Os embutidos cozidos são aqueles que sofrem processo de tratamento térmico, em estufa ou água, e conservação sob refrigeração na maioria dos casos. O tratamento térmico também pode ser realizado com a defumação sob temperaturas mais elevadas (BENEVIDES; NASSU, 2013).

Na etapa de cozimento a temperatura interna do produto deve atingir de 70 a 75°C, temperaturas bem acima da temperatura de transição da miosina que é de 43°C a 55°C, por este motivo ocorre a desnaturação da proteína (DAUDT, 2013).

No processo de cozimento das linguiças, a defumação ocorre primeiro com intensa fumaça e aquecimento até que a temperatura

interna da linguiça atinja 70°C. No caso de ser utilizada a fumaça líquida, a mesma deve ser aplicada efetuando-se três atomizações durante a permanência na estufa (TERRA, 1998).

Num processo tradicional a defumação funciona como um conservante e promove alterações benéficas em relação à aparência e o sabor. O efeito da conservação se deve à somatória dos seguintes fatores: secagem da superfície do produto, que inibe o crescimento de microrganismos, elevação da temperatura, que age na velocidade das reações, quantidade depositada de compostos fenólicos, ácidos e algumas carbonilas que têm propriedades bacteriostáticas e quantidade depositada de fenóis e produtos da reação de *Maillard* que inibem a oxidação da gordura (SCHWERT, 2014).

A defumação dentro do processo tem ação conservante, mas se aplicada sozinha não é suficiente para tornar o produto cárneo estável à temperatura ambiente. Num produto cárneo a soma dos vários fatores como o uso na formulação, dos sais cloreto de sódio e nitrito de sódio/potássio, a presença de tecido gorduroso (que contém menos água), o uso da secagem, causam ao longo do processo, a diminuição da atividade de água até valores tais que inibam o crescimento de bactérias, ou mesmo de leveduras e bolores (MOELLER; LINDER, 1996).

A redução da atividade de água dos embutidos cozidos é o fator principal na conservação desses produtos quando defumados. As técnicas de manipulação posteriores ao cozimento do produto defumado, tais como armazenamento, retirada da tripa, embalagem, exposição ao ar, porcionamento, reduzem grandemente a estabilidade do produto. O que torna imprescindível a utilização de outras tecnologias de conservação como a refrigeração, embalagem a vácuo, embalagem em atmosfera modificada, proteção à luz, ou outros meios (SCHWERT, 2014).

Após o processo de cozimento e defumação as linguiças cozidas são resfriadas e embaladas a vácuo. A embalagem a vácuo tem se mostrado muito eficaz para estender a vida de prateleira destes produtos, que nestas condições torna seletivo o crescimento de muitos microrganismos (SARMENTO, 2006).

A embalagem influencia a qualidade e a durabilidade dos produtos cárneos, pois altera o ambiente ao redor do produto, criando condições que retardam as reações de deterioração. A embalagem previne a evaporação da umidade do produto, evitando perdas de peso e alterações de aparência, textura e aroma. Contudo, a maior alteração no ambiente que circunda o produto, provocada pela embalagem, é quanto à composição gasosa. Esta atmosfera irá determinar a cor do produto, o

tipo e a extensão da deterioração microbiológica e a taxa de oxidação dos seus componentes (OLIVEIRA et al, 2006).

Nas embalagens a vácuo, a taxa de permeabilidade ao oxigênio do material influi diretamente na vida de prateleira do produto, pois a entrada de pequena quantidade de oxigênio na embalagem gera uma baixa pressão parcial deste gás, suficiente para a oxidação do pigmento de carnes frescas e curadas (OLIVEIRA et al, 2006).

Por outro lado, a presença de lacres de identificação da marca, grampos e outras regiões pontiagudas, exigem embalagens com alta resistência à perfuração. A perfuração do filme provocará perda de vácuo e consequente falha do sistema de conservação. Boas características de termos soldagem também são fundamentais para manter a integridade da embalagem e garantir a vida útil do produto (OLIVEIRA et al, 2006).

O acondicionamento a vácuo prolonga a vida útil do produto, permitindo o aumento do raio de distribuição do mesmo. Quando um produto é embalado à vácuo em uma embalagem barreira a gases, altera-se radicalmente a atmosfera gasosa ao seu redor. A pequena quantidade de oxigênio remanescente no interior da embalagem é consumida pela atividade metabólica da carne e das bactérias, criando-se, assim, um microsistema anaeróbio/ microaeróbio dentro da embalagem, que, auxiliado pelo efeito inibitório do CO₂ liberado na respiração de microrganismos, retarda o crescimento de bactérias deterioradoras, como as *Pseudomonas*, permitindo a predominância de BAL, que têm menor potencial de deterioração e crescimento limitado a baixas temperaturas (OLIVEIRA et al, 2006).

Neste contexto a embalagem, a qualidade inicial do produto e a temperatura de estocagem/comercialização assumem grande importância na manutenção dos produtos embalados à vácuo (OLIVEIRA et al, 2006).

2.2 BACTÉRIAS ÁCIDAS LÁTICAS

As BAL são produtoras de ácido láctico, sendo este o principal produto final de fermentação. As BAL são caracterizadas como sendo gram-positivas, anaeróbias facultativas, mas toleram pequenas quantidades de oxigênio, designando-se por microaerófilas, geralmente catalase negativa, não esporuladas, em forma de cocos, cocobacilos ou bacilos, e geralmente imóveis. Existem subgrupos com estirpes heterofermentativas que produzem, além de ácido láctico, grandes quantidades de dióxido de carbono e ácido acético ou etanol (FELIPE,

2008), também podem ser homofermentativas, em que o produto final é quase exclusivamente ácido láctico (BEASLEY, 2004).

De acordo com Terra et al (2004), as BAL heterofermentativas fermentam a glicose adicionada à formulação, de forma distinta das bactérias lácticas homofermentativas, além do fato de que as primeiras bactérias chegam ao embutido através da contaminação, enquanto que estas últimas são adicionadas, buscando qualificar o produto cárneo. Ressalta-se que a contaminação por bactérias lácticas heterofermentativas, geralmente é o resultado do contato da carne com superfícies inadequadamente higienizadas.

Na tabela 2 temos exemplos de bactérias homofermentativas e heterofermentativas:

Tabela 2. Grupos de bactérias lácticas de acordo com o seu tipo de fermentação

Tipo de fermentação	Principais produtos	Organismos
Homofermentativa	Lactato	<i>Lactobacillus bavaricus</i> ,
		<i>Lactobacillus sp.</i> ,
		<i>Enterococcus faecalis</i>
		<i>Pediococcus pentosaceus</i>
		<i>Lactobacillus plantarum</i>
Heterofermentativa	Lactato, etanol, CO ₂	<i>Lactobacillus brevis</i>
		<i>Leuconostoc mesenteroides</i>

Fonte: Adaptado SILVA, 2011.

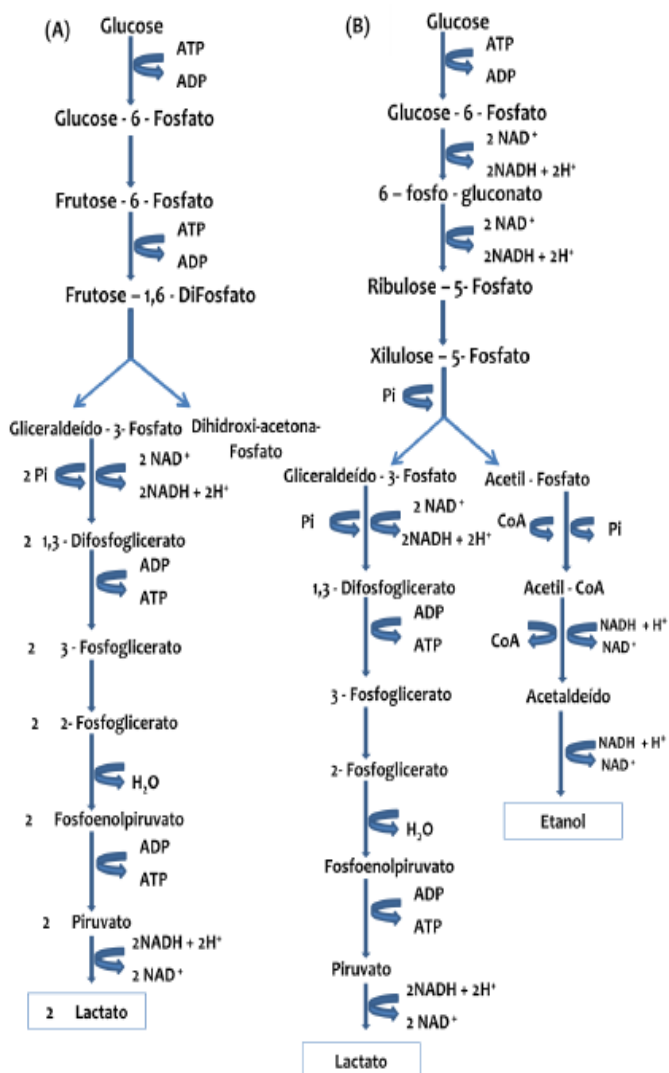
Ainda conforme Terra et al. (2004) as BAL heterofermentativas incorporam a glicose através da ação de uma permease em nível de membrana celular. Já as BAL homofermentativas incorporam a glicose sob a forma de glicose-6-fosfato, devido à existência do sistema fosfoenolpiruvato: fosfotransferase. Fosfoenolpiruvato, também em nível de membrana. No interior das BAL heterofermentativas ao ocorrer a formação da ribulose-5-fosfato a partir do 6-fosfato-gluconato, sob a ação da enzima 6-fosfato-gluconato desidrogenase, libera-se o gás carbônico. Enquanto as BAL

heterofermentativas produzem um aroma resultante de vários compostos, desqualificando o embutido, as BAL homofermentativas produzem apenas lactato, a partir do piruvato sob a coordenação da enzima lactato desidrogenase.

O grupo das BAL é composto por 15 gêneros: *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Pediococcus*, *Lactococcus*, *Bifidobacterium*, *Atopobium*, *Aerococcus*, *Lactobacillus*, *Lactosphaera*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Paralactobacillus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus*, *Weisella*. São consideradas as principais bactérias responsáveis pelos processos de alteração de produtos cárneos. *Lactobacillus curvatus* é a principal espécie que altera os produtos cárneos embalados em atmosfera anaeróbia. Também se podem destacar lactobacilos heterofermentativos e *Leuconostoc* como sendo responsáveis pelas alterações encontradas em produtos cárneos cozidos embalados a vácuo (GUERREIRO, 2011).

Os microrganismos que produzem mais comumente *slime* são as BAL, *Lactobacillus*, *Leuconostoc* e estreptococos, micrococos e leveduras. Esses microrganismos podem crescer à temperatura de refrigeração sobre a superfície úmida dos produtos cárneos curados. Os fungos superficiais ocorrem devido a presença de microrganismos estritamente aeróbios e não crescem na superfície dos produtos mantidos em condições anaeróbicas. A embalagem a vácuo apresenta bons resultados para o controle desta alteração (ROÇA, 2000).

Figura 1. Vias de fermentação da glucose. (A) Via homofermentativa e (B) Via heterofermentativa.



Fonte: Silva, 2011.

Conforme demonstrado na figura 1 a redução de O_2 inibe os microrganismos aeróbios facilitando o desenvolvimento de organismos anaeróbicos. Em circunstâncias normais, a população que se desenvolve é dominada pelos microrganismos que pertencem ao grupo de BAL. Durante a multiplicação as BAL utilizam o O_2 , inibindo o crescimento de bactérias aeróbias. Além disso, as BAL heterofermentativas produzem CO_2 , que tem atividade antimicrobiana específica (SCETAR et al, 2013).

Observa-se a formação de gás, especialmente em embutidos maturados, devido a temperaturas que permitem o crescimento bacteriano, principalmente das BAL heterofermentativas e raramente leveduras que produzem dióxido de carbono ao fermentar os açúcares adicionados ao produto. Nos produtos com esta alteração, aparecem numerosas “bolhas” ou “olhos” em toda massa do produto e o “inchamento” que às vezes determina a ruptura da tripa (ROÇA, 2000).

As BAL são bactérias mesófilas, podendo crescer a temperaturas inferiores a $5^{\circ}C$ e superiores a $45^{\circ}C$. Isto indica que durante a refrigeração, as BAL podem se desenvolver, tendo origem na matéria-prima. A maioria das BAL crescem em meios ácidos, com um intervalo de pH, entre 4,0 e 4,5, e as restantes podem crescer em meio de pH inferior a 3,2 ou superior a 9,6, a tolerância à acidez é uma característica variável entre espécies (GUERREIRO, 2011).

Ao representarem uma pequena fração da microbiota contaminante inicial, não possuem elevado potencial deteriorativo, as BAL podem causar deterioração num alimento apenas se o desenvolvimento de outras bactérias deteriorativas estiver inibido. A deterioração deste grupo de bactérias resulta na presença de *slime* superficial, líquido liberado pelo produto que se torna viscoso e esbranquiçado, e de CO_2 , diminuindo o pH e desenvolvendo odores desagradáveis (GUERREIRO, 2011).

A combinação das características de microaerofilia, a presença de cloreto de sódio e nitrito de sódio, e atividade de água reduzida no produto é favorável ao seu crescimento. O processo de cozimento desempenha um papel significativo na seleção de bactérias que podem obter no produto juntamente com a matéria-prima carne e aditivos utilizados ou provenientes da produção ambiente (KAMENÍK, 2015).

A principal bactéria associada à deterioração dos produtos de carne cozidos são BAL. A deterioração de embutidos cárneos ocorre como o resultado de infecções bacterianas ou alterações químicas de crescimento, principalmente a oxidação. Para garantir uma vida útil

adequada aos produtos ou estender o prazo de validade, deve-se inibir a ação dos microrganismos. (KAMENÍK, 2015).

2.3 USO DE ÁCIDO ORGÂNICOS COMO CONSERVANTES

Os ácidos orgânicos são compostos, presentes em muitos alimentos de origem vegetal, bem como produzidos naturalmente durante a fermentação dos alimentos. Os ácidos orgânicos são frequentemente adicionados aos alimentos como acidulantes, aromatizantes, conservantes, para inativação ou inibição do crescimento de microrganismos deteriorantes e patogênicos de origem alimentar (GURTLE; MAI, 2014).

A inativação ou inibição microbiana pelos ácidos orgânicos está relacionada a função do pH, do pKa, e do número de constantes de dissociação associados com um ácido, o qual é conhecido por atingir a membrana bacteriana, o pH intracelular, e a quelação de íons (GURTLE; MAI, 2014).

Os agentes conservantes mais comuns são os ácidos orgânicos fracos. Em solução, os ácidos fracos existem num equilíbrio dependente do pH entre o estado não dissociado e dissociado. Estes conservantes têm atividade inibidora a um pH baixo, porque este favorece o estado sem carga, não dissociado da molécula que é livremente permeável através da membrana citoplasmática e, portanto, é capaz de entrar na célula (BRUL; COOTE, 1999).

Os conservantes químicos alimentícios pertencem à classe dos aditivos (ingredientes adicionados intencionalmente aos alimentos em quantidades menores) com os quais se pretende aumentar o tempo de vida médio dos produtos (ALMEIDA, 2011).

A ação inibitória é então, estabelecida devido ao ácido orgânico fraco conseguir atravessar a membrana plasmática, no estado não dissociado. Subsequentemente, o pH mais elevado no interior da célula, a molécula será dissociada resultando na liberação de ânions carregados e prótons que não podem atravessar a membrana citoplasmática. A molécula conservante difunde-se para a célula, até que o equilíbrio seja atingido, de acordo com o gradiente de pH, através da membrana, resultando na acumulação de ânions e prótons dentro da célula (BRUL; COOTE, 1999).

A inibição de crescimento por ácidos fracos tem sido proposta por vários fatores como, inibição da ruptura da membrana, inibição de reações metabólicas, stress sob a homeostase do pH intracelular e a acumulação de ânions tóxicos. Em leveduras, também foi constatada

que a ação inibitória efetiva de conservantes ácidos fracos pode ser devido à indução de um dispendioso gasto energético gerando stress, nas tentativas de restabelecer a homeostase resultando na redução da concentração de energia disponível para o crescimento e outras funções metabólicas essenciais (BRUL; COOTE, 1999).

A resistência microbiana aos ácidos orgânicos fracos pode envolver vários mecanismos. Para as bactérias, existe conhecimento significativo sobre os seus mecanismos de resistência intrínseca. Contra estes compostos, bactérias gram-positivas que não possuem uma membrana exterior, então os conservantes podem facilmente entrar nessas células, pois sua resistência intrínseca é relativamente baixa (BRUL; COOTE, 1999).

O mecanismo antimicrobiano dos ácidos orgânicos anti microbianamente ativos baseia-se no abaixamento do pH do citoplasma bacteriano após a permeação das formas não dissociadas através das membranas bacterianas. Desde que os compostos estejam predominantemente presentes na fase aquosa, este transporte de massa ocorre tornando rapidamente os compostos bastante eficazes. Em matrizes complexas, tais como salsichas e linguiças cozidas, concentrações necessárias para prolongar significativamente a vida de prateleira muitas vezes levam a mudanças visíveis nas propriedades sensoriais dos produtos (TERJUNG et al, 2014).

O controle do crescimento de microrganismos em alimentos por conservantes químicos está relacionado com o pH do meio. A forma não dissociada da molécula é que confere a característica anti microbiana dos conservantes. Os valores de pK_a (pH no qual 50% da molécula se encontra na forma dissociada) da maioria dos conservantes encontra-se na faixa de pH entre 3,0 e 5,0, portanto a concentração da forma não dissociada aumenta com o aumento da acidez, garantindo uma maior eficiência no controle dos microrganismos (ALMEIDA, 2011).

Resultados de estudos indicam que combinações binárias são mais eficazes do que os antimicrobianos individuais e que a adição de um terceiro componente pode ainda melhorar a eficácia. O uso de combinações de antimicrobianos permite que os níveis de concentrações individuais, que são reduzidos dentro dos limites da regulamentação aprovada, possam ter sua atividade aumentada (TERJUNG et al, 2014).

Atualmente a indústria procura métodos adicionais para melhorar a qualidade e segurança de seus produtos, por isso os ácidos orgânicos devem ser escolhidos de modo que sejam compatíveis com o produto matriz quando atuam em diferentes alvos celulares ou melhorar

a capacidade de um componente particular para atuar sobre um alvo específico. (TERJUNG et al, 2014).

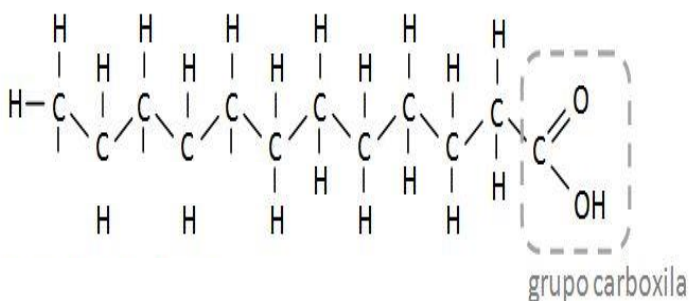
2.3.1 Ácido Láurico

O ácido láurico possui um baixo ponto de fusão e um baixo valor de iodo, o qual faz com que este óleo seja relativamente resistente a rancidez oxidativa, estas propriedades proporcionam a ampla utilização dos óleos de ácido láurico na indústria de alimentos (KINDERLERER, 1994).

O óleo de babaçu é rico em ácido láurico, com concentração acima de 40%. As gorduras láuricas, como caso do óleo de babaçu, são muito importantes na indústria. São resistentes à oxidação não enzimática e ao contrário de outras gorduras saturadas, elas têm temperatura de fusão baixa e bem definida, também muito empregadas no preparo de gorduras especiais para confeitaria, sorvetes, margarinas e substitutos de manteiga de cacau. As principais fontes de gorduras láuricas no mundo são os óleos de coco e palmiste (coquinho do dendê ou palma) (MACHADO et al, 2006).

Demonstra-se na figura 2 a estrutura molecular do ácido láurico.

Figura 2. Estrutura molecular do ácido láurico

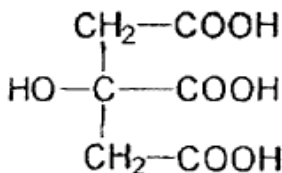


Fonte: FENNEMA et al, 2010.

2.3.2 Ácido Cítrico

O ácido cítrico ou citrato, nome oficial ácido 2-hidroxi 1,2,3-propanotricarboxílico e estrutura molecular ilustrada na figura 3, é um ácido orgânico fraco, que pode ser encontrado nos citrinos. É um ácido orgânico tricarboxílico presente na maioria das frutas, sobretudo em cítricos como o limão e a laranja. A acidez do ácido cítrico é devido aos três grupos carboxilas - COOH que podem perder um próton em soluções, como consequência forma-se um íon citrato. Os citratos são bons controladores de pH de soluções ácidas (ALMEIDA, 2011).

Figura 3. Estrutura molecular do ácido cítrico



Fonte: FENNEMA et al, 2010.

Atualmente, predomina-se a síntese do ácido cítrico por via fermentativa. Para emprego industrial, o ácido cítrico é fabricado pela fermentação aeróbica do açúcar bruto (sacarose) ou açúcar de milho (dextrose) através do fungo filamentosos *Aspergillus niger*. Esse processo é responsável por mais de 90% da produção, uma vez que é mais econômico e simples do que a via química, embora uma pequena parte ainda seja obtida de frutas cítricas (MOTTA, 2013).

O ácido cítrico é o principal ácido orgânico encontrado em vegetais. Atua como quelante e sinergisticamente com ácido ascórbico e seus sais neutros. Apresenta diminuição na atividade da polifenoloxidase, devido ao abaixamento do pH do meio e pela complexação com o cobre do centro ativo da enzima (KLUGE et al, 2014).

Devido às propriedades: acidulante, palatabilidade, atoxicidade, facilidade de assimilação pelo organismo humano, tamponamento e sequestro de íons, o ácido cítrico apresenta uma série de aplicações industriais. Cerca de 70% da produção deste ácido é utilizada pela indústria de alimentos, 12% pela indústria farmacêutica e 18% por outras indústrias (ALMEIDA, 2011).

Na indústria alimentícia é usado como aditivo (acidulante e antioxidante) na fabricação de refrigerantes, sobremesas, conservas de frutas, geleias, doces e vinhos. Também é utilizado na composição de sabores artificiais de refrescos em pó e na preparação de alimentos gelatinosos. Previne a turbidez, auxilia na retenção da carbonatação, potencializa os conservantes, confere sabor frutal característico, prolonga a estabilidade da vitamina C, reduz alterações de cor, realça os aromas e tampona o meio (ALMEIDA, 2011).

Os ácidos orgânicos naturais de baixo peso molecular e os seus sais de sódio representam uma opção relevante por causa de sua fácil disponibilidade, baixo custo comercial e ampla gama de permissão nas concentrações de utilização (ALMEIDA, 2011).

O ácido cítrico é utilizado amplamente para produtos defumados, como conservante, onde a CMS entra como matéria prima. A ação antioxidante, teoricamente acontece ligando-se competitivamente ao oxigênio, interrompendo a etapa de propagação pela destruição ou pela ligação dos radicais livres, inibindo os catalisadores ou estabilizando os hidroperóxidos (MOTTA, 2013).

Os corpos proteicos da pasta destinada as preparações de carne mecanicamente separada como subprodutos se encontram ligados entre si por diversos compostos, que forma uma rede a qual a água pode ser retida. Considerando-se que são participantes deste processo, o cálcio e o magnésio, por exemplo, são fixados por um complexo pelo uso do ácido cítrico ou citrato de sódio, originando-se o afrouxamento das cadeias proteicas, e com isso forma espaço onde a água fica retida (MOTTA, 2013).

2.3.3 Ácido Láctico e Acético

Os efeitos antimicrobianos do ácido láctico e ácido acético são atribuídos para a redução do pH dos alimentos para um nível abaixo do intervalo de crescimento dos microrganismos e também sua inibição metabólica, por possuírem as moléculas de ácido orgânico não dissociadas. O ácido acético tem um efeito sinérgico com o ácido láctico na prevenção potente dos alimentos, devido ao seu elevado valor pKa fazendo com que tenha um elevado nível de dissociação no interior da célula (CROWLEY et al, 2013).

O ácido acético é um produto da oxidação do etanol e inibe a fermentação acética de uma forma exponencial. As bactérias acéticas realizam uma respiração aeróbia, apesar de muitas vezes a sua atividade ser designada incorretamente de fermentação acética. O pH ótimo de

crescimento das bactérias acéticas situa-se entre 5,0 e 6,0 contudo podem crescer a valores de pH mais reduzidos. Estas bactérias são mesófilas, a sua temperatura ótima de crescimento situa-se entre 25° e 30°C (MARTINS, 2012).

As bactérias acéticas podem surgir em ambientes açucarados, alcoolizados e um pouco ácidos, tais como flores, frutos, cerveja, vinho, cidra, vinagre, sumos de fruta ácidos e mel. Nestes meios, oxidam açúcares e álcoois resultando na acumulação de ácidos orgânicos como produtos finais (MARTINS, 2012).

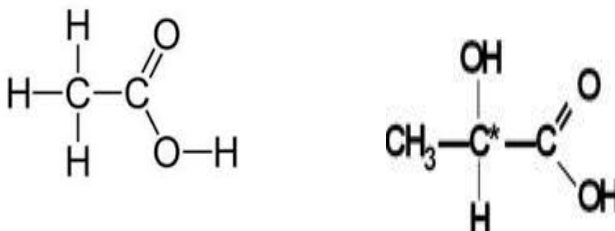
As bactérias acéticas desempenham um papel importante na produção de alimentos e bebidas alcoólicas, bem como na bio produção de produtos químicos industriais. Uma das principais características das bactérias acéticas é a sua capacidade em oxidar uma vasta variedade de substratos e de acumular no meio produtos resultantes o seu metabolismo sem toxicidade para as próprias bactérias. Esta capacidade é devida à atividade de desidrogenases localizadas na membrana da célula, associadas com a cadeia de citocromos (MARTINS, 2012).

O ácido láctico é produzido por meio da fermentação bacteriana da lactose, açúcar do leite, pelo *Streptococcus lactis*. Fabricado industrialmente pela fermentação controlada de hexoses de melaço, milho e leite, é empregado na indústria alimentícia, como acidulante (MOTTA, 2013).

O ácido láctico é um ácido orgânico não volátil, sem odor e de sabor suave. Este ácido está presente em muitos alimentos, seja naturalmente ou como produto de fermentação artificial, e é um dos principais intermediários do metabolismo em diversos organismos. Podendo ser obtido por fermentação ou síntese química, o ácido láctico tem uma história antiga de uso como acidulante e flavorizante na produção de diversos alimentos, e como intermediário na síntese de derivados empregados pelas indústrias alimentícia e farmacêutica. O ácido láctico de origem biológica influi no relativo prolongamento de sua vida útil e em relação aos produtos elaborado, sendo muito estável em relação a temperaturas elevadas (MOTTA, 2013).

Os ácidos láctico e acético estão representados estruturalmente na figura 4.

Figura 4. Estrutura molecular do ácido láctico e acético



Fonte: FENNEMA et al, 2010.

2.3.4 Ácido Ascórbico

O ácido ascórbico é uma vitamina hidrossolúvel de grande importância nutricional, por sua atuação como cofator em diversos processos fisiológicos e como antioxidante. Por ser um nutriente menos estável, o ácido ascórbico sofre perdas no processamento e no armazenamento, influenciadas por diversos fatores, como pH, temperatura, presença de íons (CUNHA et al, 2014).

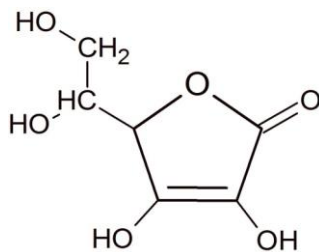
O ácido ascórbico, como antioxidante em alimentos, funciona de diversas maneiras: na remoção do oxigênio, prevenindo, portanto, a oxidação de constituintes sensíveis do alimento e na regeneração de antioxidantes, além de atuar sinergisticamente com os agentes complexantes e, ou, na redução de produtos indesejáveis da oxidação (RAMALHO et al, 2005).

O ácido L-ascórbico e seus sais neutros, isoladamente ou em combinação com ácido cítrico, são utilizados como antioxidantes em frutas, hortaliças vegetais e sucos para prevenir o escurecimento e outras reações oxidativas (KLUGE et al, 2014).

O ácido ascórbico ajuda a manter a cor vermelha da carne defumada, como o toucinho, previne a formação de nitrosaminas a partir do nitrito de sódio usado como inibidor do crescimento de microrganismos em carnes. Essa prevenção da perda de cor e sabor ocorre porque o ácido ascórbico reage com o oxigênio em alimentos (PEREIRA, 2008).

Este ácido tem sua estrutura molecular representada na figura 5.

Figura 5. Estrutura Molecular ácido ascórbico



Fonte: FENNEMA et al, 2010.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

Os testes foram realizados na linha de produção de linguiças curadas cozidas de uma fábrica de embutidos cárneos, empregando a formulação e embalagem da linguiça comercializada por esta mesma empresa.

As linguiças curadas cozidas utilizadas no presente estudo tiveram suas características físico químicas avaliadas, porém foram respeitados os padrões estipulados pela empresa para este produto, não ocorrendo influência sob a avaliação. Os resultados para análise de umidade respeitaram a faixa entre 45,000 - 51,000 g/100g, Aw ficaram na faixa entre 0,943 - 0,953, nitrito de sódio máximo 300 ppm, nitrato de sódio máximo 150 ppm, e NaCl mantiveram-se na faixa de 3,300 - 4,000 g/100g.

3.1 DELINEAMENTO DO TRABALHO

Para o desenvolvimento dos experimentos foram determinados dois tratamentos: o primeiro (T1) com o conservante de superfície, composto pelo regulador de acidez e o segundo (T2) sem adição do regulador de acidez.

Conforme quadro 1, foram realizadas um total de nove repetições, estas foram feitas em dias alternados compondo 3 pacotes de produto por tratamento (T1 e T2). Em cada semana concluiu-se um ciclo de repetições totalizando três ciclos, as semanas também foram alternadas.

Os pacotes de linguiças curadas cozidas embaladas a vácuo continham 2,5 kg de produto, totalizando 27 unidades para cada tratamento.

3.1.1 Conservantes de superfície utilizados na pesquisa

Foi utilizado na pesquisa o regulador de acidez Master RA 200, da empresa AD FOODS Ltda, contendo ácidos láurico, cítrico, láctico, acético, ascórbico e seus sais de sódio a uma diluição de 5% em óleo de soja, conforme pré-estabelecido pelo fabricante.

3.2 PREPARAÇÃO DAS LINGUIÇAS

3.2.1 Matérias primas e ingredientes

A matéria-prima cárnea utilizada foi carne suína obtida dos cortes denominados sobrepaleta, barriga e retalho dos músculos do pernil, CMS de frango e CMS de suíno, e os seguintes ingredientes não cárneos: sal, proteína de soja, açúcar, páprica, pimenta vermelha, noz-moscada, coentro, pimenta preta, pimenta calabresa, cravo, aromatizante: aroma natural de fumaça, estabilizantes (tripolifosfato de sódio e pirofosfato dissódico), realçador de sabor (glutamato monossódico), corantes (caramelo IV e carmim de cochonilha), antioxidante (isoascorbato de sódio) e conservador (nitrito de sódio). Como envoltório para os embutidos foi utilizado tripa de colágeno da empresa Viscofan.

3.2.2 Equipamentos

A carne suína foi moída em disco de corte de 8 mm em um moedor marca Mado. Para a etapa de mistura da massa e cura foi utilizado um misturador/silo marca Cosini. O embutimento foi realizado com embutidoras marca Handtmann. A etapa de cozimento foi realizada em estufas da marca Arprotec. E a etapa da embalagem foi realizada em embaladora da marca Multivac.

3.2.3 Elaboração das linguiças curadas cozidas

A fabricação das linguiças curadas cozidas embaladas à vácuo utilizadas no trabalho segue as etapas representadas na figura 8. As matérias primas foram recebidas e estocadas em câmaras de resfriamento para equalização e quando atingiram temperatura máxima de 7°C foram utilizadas. Foram pesadas e dispostas em caçambas. Então foi misturada a gordura (toucinho), consistente ao ponto de ser possível transforma-la em cubos. O material cárneo seguiu para o moedor onde passaram por moagem em disco de corte de 8 mm.

Na etapa de moagem é importante garantir que a massa não seja esmagada, pois os cubos de carne e gordura devem ser visíveis no produto final, obedecendo as suas características. No misturador a carne moída foi unida à CMS de frango e de CMS de suíno, a proteína de soja e a salmoura.

A salmoura foi preparada em um tanque separadamente onde foi adicionada a água, o gelo e os condimentos, para que se mantivesse a temperatura da massa. O ideal era que a salmoura apresentasse a temperatura máxima de 4°C.

Após, a massa seguiu por uma esteira até chegar ao silo, onde ocorreu a etapa de descanso que auxilia no processo de cura. Nesta etapa a temperatura não poderia ultrapassar 12°C. Então a massa seguiu para a etapa de embutimento, onde foi embutida automaticamente em tripas de colágeno (tripa comestível). Após embutido, os gomos foram posicionados em varas de alumínio penduradas em gaiolas.

A etapa de cozimento das linguiças foi realizada em estufas conforme figura 6, e a defumação foi aplicada nesta etapa até a obtenção do padrão de cor desejado. As linguiças atingiram em seu interior a temperatura de 73°C, em um tempo mínimo de três horas e meia, por se tratar de um PCC (ponto crítico de controle) esta etapa foi monitorada a cada meia hora sendo o produto retirado da estufa somente após atingir o limite crítico de 73°C, garantindo assim neste ponto do processo a eliminação dos microrganismos patogênicos.

Figura 6. Etapa de cozimento das linguiças



Fonte: O autor

Quando finalizado o cozimento das linguiças as gaiolas seguiram para o resfriamento em câmaras, e foram liberadas para a etapa de embalagem após atingirem a temperatura de 20°C no interior do gomo. As linguiças seguiram por esteira para a etapa de pesagem, onde foram pesadas manualmente.

Antes do pacote da linguiça ser fechado foi pulverizado em sua superfície 10 mL do regulador de acidez, em cada “berço” formado pela termoformagem do fundo da embalagem, conforme figura 7. Após as embalagens foram seladas à vácuo.

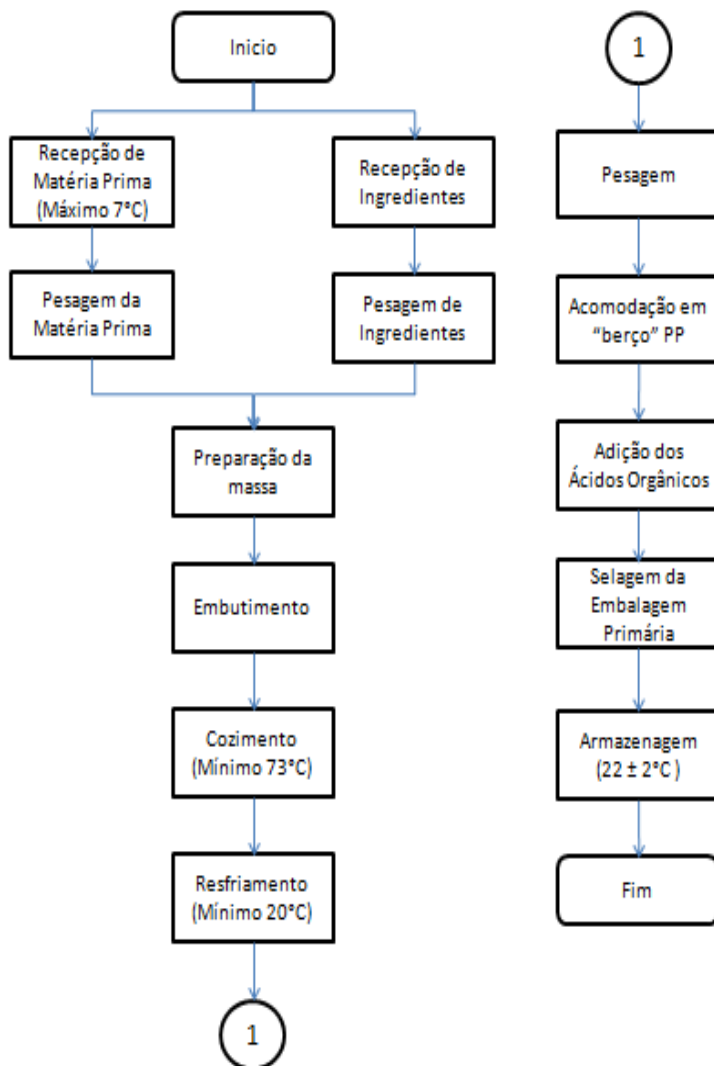
Figura 7. Linguiça com regulador de acidez



Fonte: O autor

Em todo o processo de elaboração das linguiças foi aplicado monitoramento de PPHO (procedimento padrão de higiene operacional), porém podem ocorrer falhas no processo produtivo tornando o produto ainda mais suscetível a contaminações relacionadas a higiene do próprio ambiente, equipamentos e manipuladores.

Figura 8. Fluxograma do processo das linguças curadas cozidas embaladas à vácuo



Fonte: O autor

As embalagens contendo as linguças dos tratamentos T1 e T2 foram mantidas em sala climatizada em temperatura ambiente de $22 \pm 2^\circ\text{C}$, simulando a situação real de expedição e comercialização.

3.2.4 Procedimento para avaliação dos testes

O procedimento descrito abaixo no quadro 1, foi seguido para todas as avaliações e realizado em semanas e dias alternados.

Quadro 1. Esquema de coleta de amostras

1º Ciclo de repetições	Repetições	Quantidade amostras	Dia	Condição da amostra
	1	3 pacotes	2ª feira	Temperatura ambiente T1
		3 pacotes		Temperatura ambiente T2
	2	3 pacotes	4ª feira	Temperatura ambiente T1
		3 pacotes		Temperatura ambiente T2
	3	3 pacotes	6ª feira	Temperatura ambiente T1
3 pacotes		Temperatura ambiente T2		
Semana sem Repetições				
2º Ciclo de repetições	Repetições	Quantidade amostras	Dia	Condição da amostra
	4	3 pacotes	2ª feira	Temperatura ambiente T1
		3 pacotes		Temperatura ambiente T2
	5	3 pacotes	4ª feira	Temperatura ambiente T1
		3 pacotes		Temperatura ambiente T2
	6	3 pacotes	6ª feira	Temperatura ambiente T1
3 pacotes		Temperatura ambiente T2		
Semana sem Repetições				
3º Ciclo de Repetições	Repetições	Quantidade amostras	Dia	Condição da amostra
	7	3 pacotes	2ª feira	Temperatura ambiente T1
		3 pacotes		Temperatura ambiente T2
8	3 pacotes	4ª	Temperatura ambiente T1	

		3 pacotes	feira	Temperatura ambiente T2
	9	3 pacotes	6 ^a	Temperatura ambiente T1
		3 pacotes	feira	Temperatura ambiente T2

Fonte: O autor.

Foram realizados ensaios microbiológicos e físico-químicos inicialmente com tratamento o T2, os quais caracterizam o tempo zero, na data em que o produto foi fabricado. A análise físico-sensorial de cor, odor e aparência foi realizada de acordo com um padrão de produto estabelecido como ideal, conforme figura 9. A cada 07 (sete) dias os pacotes eram avaliados e os que apresentavam defeitos, conforme figura 10, 11, 12 e 13, eram destinados para as análises microbiológicas e físico-químicas.

3.2.5 Ensaios microbiológicos

Para verificar os efeitos decorrentes das alterações sofridas pelo produto acondicionado em temperatura ambiente, foram realizados ensaios de contagem de bactérias lácticas, pela técnica de contagem em profundidade, em meio de cultura MRS (Man, Rogosa and Sharpe) em pH 5,7 à temperatura de 30°C por 72 horas conforme metodologia APHA, 2001. As amostras foram retiradas da superfície do embutido quando o pacote foi reprovado na análises físico-sensoriais.

Foram realizadas também as análises exigidas pela RDC nº 12 de 2 de janeiro de 2001 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (BRASIL, 2001) para produtos cárneos cozidos: contagem de Coliformes a 45 °C (máximo $1,0 \times 10^3$ UFC/g) (AOAC, 2012), *Staphylococcus* coagulase positiva (máximo $3,0 \times 10^3$ UFC/g) (AOAC, 2012), Clostrídios sulfito redutores a 46 °C (máximo $5,0 \times 10^2$ UFC/g) (AOAC, 2012) e *Salmonella* sp (ausência em 25 g) (ISO, 2002). Além destas análises foram também investigadas *Listeria monocytogenes* (ISO, 2004) e bolores e leveduras (AOAC, 2012), para obtenção de parâmetros de segurança alimentar do produto, porém não foram apresentados desvios nestas análises.

3.2.6 Ensaios físico-químicos

Os ensaios físico químicos realizados nas linguças curadas cozidas embaladas à vácuo foram: pH, pelo método potenciométrico (BRASIL, 1999), e em complemento à pesquisa foram realizadas as análises de Aw pelo método fotoelétrico em equipamento Aqualab Decagon (PARDI, 2001); Umidade pelo método gravimétrico à vácuo (Instituto Adolfo Lutz, 2005); nitratos totais pelo método de determinação de pureza em nitritos e nitratos de sódio (BRASIL, 1999); NaCl pelo método de determinação de cloretos por argentometria (BRASIL, 1999).

3.2.7 Ensaios físico-sensoriais

Os ensaios sensoriais aplicados nas linguças curadas cozidas embaladas à vácuo foram realizados visualmente por analista sensorial treinado.

A cada sete dias os pacotes eram avaliados comparando o padrão desejado com o produto analisado. Foram avaliados os parâmetros de aparência, cor, odor, seguindo os parâmetros abaixo:

Aparência da embalagem: Vácuo perfeito, solda lisa e perfeitamente selada. Ausência de estufamento do pacote.

Aparência do produto: Homogeneidade de cor entre os gomos, cor acastanhada e moderado brilho por todo o gomo, ausência de líquido, ausência de *slime*, ausência de esverdeamento no produto.

Odor: Pouco a moderado odor defumado, perfil fumaça natural. Ausência de odor de ranço e ácido.

Conforme definido por Thiemig, Buhr e Wolf (1998), esta técnica de amostragem permite avaliar o produto, em um único dia, com tempos diferentes de armazenamento, ou seja, no quarto dia, por exemplo, se pode avaliar pacotes com 1, 2 e 3 dias de vida útil. Desta forma, é possível avaliar a evolução do processo de deterioração mais nitidamente, visto que, a deterioração conjunta dos produtos dificulta a observação do pesquisador, pois vários pacotes podem deteriorar num mesmo dia.

Figura 9. Amostra padrão



Fonte: O autor.

Figura 10. Amostra com defeito: *slime*



Fonte: O autor.

Figura 11. Amostra com defeito: perda de vácuo e estufamento do pacote



Fonte: O autor.

Figura 12. Amostra com defeito: diferença de coloração



Fonte: O autor.

3.2.8 Análise estatística

Após os resultados das análises físico- sensoriais, microbiológicas e físico químicas terem sido concluídos as amostras foram submetidas a análise estatística pelo modelo probabilístico de Weibull, através do Software Winconf. V1.02.

O critério estabelecido para a seleção das amostras pelo software foi o seguinte: presença de *slime*, $\text{pH} < 6,2$, contagem de bactérias lácticas $> 10^6$ UFC/g.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 PARAMETROS MICROBIOLÓGICOS E FÍSICO-QUÍMICOS

Os resultados das análises microbiológicas e físico-químicas dos tratamentos T1 e T2 foram comparados com mesma data de produção. A tabela 3 mostra o tempo de vida das amostras, as características sensoriais apresentadas, os resultados das análises de contagem de total de bactérias, bactérias ácido lácticas, pH do produto. Estas foram características decisivas para abertura do pacote e avaliação do produto.

Tabela 3. Resultados microbiológicos, físico-químicos e físico-sensoriais das amostras de linguiças curadas cozidas embaladas à vácuo.

T1 – Regulador de Acidez										T2 – Controle			
Repetição	Tempo de vida de prateleira em dias	Log Contagem total de bactérias UFC.g ⁻¹	Log BAL UFC.g ⁻¹	pH	Características Físico- sensorial	Tempo de vida de prateleira em dias	Log Contagem total de bactérias UFC.g ⁻¹	Log BAL UFC.g ⁻¹	pH	Características Físico- sensorial			
1	58	4,92	1,00	6,60	slime	35	6,48	6,30	6,02	Perda de vácuo e slime			
	105	4,48	4,34	6,22	Conforme	28	7,85	7,83 _{sexs}	6,06	Perda de vácuo e slime			
	109	4,18	2,00	6,23	Conforme	64	6,87	6,51	6,04	slime			
2	41	4,51	1,00	6,78	Perda de vácuo e slime	26	7,38	1,00	6,04	Perda de vácuo e slime			
	56	2,00	2,00	6,57	slime	33	6,18	6,11	6,05	Perda de cor e slime			
	107	2,00	2,00	6,41	Conforme	56	5,83	2,30	6,05	slime			
3	28	6,88	6,47	6,31	Perda de vácuo e slime	54	7,19	6,47	6,19	slime			
	105	2,00	2,00	6,38	Conforme	81	7,98	7,49	6,18	slime			
	125	6,01	1,00	6,42	Conforme	125	6,01	3,15	6,28	Conforme			
4	95	3,53	2,00	6,59	Conforme	93	2,00	2,00	6,54	Conforme			
	72	3,88	2,00	6,34	slime	29	7,44	5,89	6,04	Perda de vácuo e slime			
	95	4,85	2,00	6,59	Conforme	88	5,95	4,85	6,62	slime			
5	127	7,71	7,60	6,19	Conforme	43	3,96	3,03	6,60	Estufamento pscote			
	133	2,00	2,00	6,59	Conforme	56	2,00	2,00	6,05	Estufamento pscote			
	180	2,00	2,00	6,39	Conforme	48	7,81	7,60	6,54	Perda de vácuo e slime			
6	27	6,87	1,00	6,15	Perda de vácuo e slime	27	7,78	7,77	6,08	Perda de vácuo e slime			
	91	2,00	2,00	6,44	Conforme	38	6,69	6,43	6,01	Perda de vácuo e slime			

	131	2,00	7,87	6,15	Conforme	17	8,01	7,87	6,15	Defeito solda pacote
7	30	2,00	2,00	6,67	Perda de vácuo e <i>slime</i>	49	6,65	6,60	6,07	<i>Slime</i>
	30	4,82	2,90	6,66	Perda de vácuo e <i>slime</i>	58	6,53	6,00	6,06	Perda de vácuo e <i>slime</i>
	77	5,23	2,11	6,20	<i>slime</i>	77	5,60	1,78	6,32	<i>slime</i>
	78	4,70	2,00	6,43	<i>slime</i>	27	6,67	6,00	6,05	Perda de vácuo e <i>slime</i>
8	118	2,00	2,00	6,26	Conforme	118	2,00	2,00	6,58	Conforme
	118	5,32	2,00	6,58	Conforme	27	2,77	1,00	6,35	<i>Slime</i>
	117	2,00	2,00	6,69	Conforme	32	4,86	4,85	6,28	Perda de vácuo e <i>slime</i>
9	187	5,95	2,00	6,39	Conforme	77	2,60	2,00	6,56	Perda de vácuo e <i>slime</i>
	117	2,00	2,00	6,69	Conforme	95	2,00	2,00	6,66	Conforme

Fonte: O autor

De acordo com a tabela 3 podemos observar a contagem alta de BAL nas amostras controle. Em pesquisas realizadas por Palumbo et al (1974) e Pérez-Chabela et al (2008) é discutida a sobrevivência destes microrganismos. Os autores discutem a alta resistência dessas bactérias ao processo de cocção, além de tolerarem quantidades de sal, nitrito e processo de defumação (FRANZ et al, 1996).

No processo de fabricação, do qual se obteve as amostras, as linguiças passam pela etapa de cozimento em estufas atingindo um limite crítico de no mínimo 73°C por um tempo de três horas e meia, o que garante a morte de microrganismos patogênicos em virtude do tempo e temperatura de cozimento.

Conforme Borch et al (1996), quando os produtos cárneos são aquecidos a uma temperatura de 65-75°C, grande parte das células vegetativas é eliminada, entretanto o problema encontra-se após tratamento térmico, pois pode ocorrer a re-contaminação do produto. A contaminação superficial do produto irá determinar a sua vida de prateleira.

Kameník et al (2015) relata que mesmo aplicando temperaturas superiores a 80°C, pode-se não se obter bons resultados em relação as BAL, e a alta temperatura apresenta um efeito negativo sobre as características sensoriais do produto e degradação dos seus constituintes nutricionais. O tratamento térmico nem sempre é eficaz, haja vista que podem sobreviver bactérias termotolerantes, e também não possui efeito sobre a contaminação secundária que pode ocorrer durante a manipulação do produto após cozimento.

Estas observações estão de acordo com os dados do presente estudo e, desta forma podemos perceber o efeito de proteção superficial que o produto obteve com a utilização do regulador de acidez.

Segundo Samelis et al (2000) níveis de contaminação de 10^3 UFC/g de bactérias totais, em sua maioria BAL, são elevados para quantificações pós-processamento de produtos cárneos cozidos embalados à vácuo. Observou-se nos dados da presente pesquisa que os resultados de contagem total de bactérias, que também foram avaliados, seguem uma tendência a qual nos leva a crer que seja decorrente da multiplicação das BAL, já que apresentam um comportamento semelhante.

Nos estudos de Samelis et al (2000) relata-se que a defumação diminuiu os níveis de contaminação por BAL devido a secagem da superfície do produto, e mostrou ainda que, ao aumentar o pH, a Aw, o sal e a defumação, o *Lactobacillus sakei*, grupo *curvatus* foi favorecido. Em geral, a deterioração láctica em produtos cárneos cozidos embalados

à vácuo consiste principalmente de *Lactobacillus* spp., *L. sakei* e predominantemente *L. curvatus*, seguido por *Leuconostoc*, *Weissella*, e *Carnobacterium*. Contudo as taxas de crescimento e o tipo de BAL estão relacionadas principalmente com a extensão do tipo de contaminação inicial, tanto da matéria prima utilizada, fabricação e higiene do local (SAMELIS et al, 2000; FLORES, 2015).

De acordo com Noskova (1978) a multiplicação das BAL é devido ao índice de carboidratos presente nos produtos cárneos embalados à vácuo, além de fazer parte da sua microbiota predominante. A fermentação dos carboidratos é realizada principalmente por BAL que dominam o processo de fermentação e produzem o ácido láctico e outros compostos aromáticos, tais como diacetil, acetaldeído, etanol, ácido acético e ácidos propiônicos, entre outros (FLORES, 2015).

Os resultados de pH apresentados na tabela 3 evidenciaram uma mudança dos valores entre os tratamentos, T2 apresentou variação entre 6,01 – 6,66 enquanto que T1 apresentou variação de 6,15 - 6,78.

Conforme estudos de Korkeala et al (1989), as concentrações de ácido láctico e os valores de pH analisados em 206 amostras de linguiças cozidas embaladas a vácuo, armazenadas a 2, 4 e 12°C, tiveram várias alterações. O pH atingiu um máximo de 6,3, as amostras foram consideradas impróprias abaixo 5,8-5,9. O valor de pH mais baixo observado foi de 4,58. Os altos níveis de BAL e um pH baixo indicam que o produto está sofrendo deterioração. A formação de ácido láctico ocorreu de forma semelhante a 4 e 12°C. As amostras consideradas aptas, sem contagens bacterianas altas foram das amostras armazenadas a 2 °C. Não houve diferenças nas mudanças de pH entre 4 e 12 ° C.

Já em pesquisa realizada por Feng et al (2013) foram avaliadas salsichas cozidas em diferentes métodos de resfriamento, estas apresentavam no início do armazenamento um aumento do pH devido ao nitrogênio presente nas amostras. Quando os lactobacilos atingiram a sua fase estacionária e tornaram-se a flora predominante, o efeito dos compostos de nitrogênio se tornou menor do que o efeito de acumulação de BAL, o que resultou na diminuição do pH. Em pesquisas realizadas por Cayré et al (2003) e Korkeala et al (1989) se demonstrou que a acumulação de BAL levou também à diminuição de pH em amostras de salsichas.

O produto analisado nesta pesquisa é distribuído para comercialização a temperatura ambiente de 25°C conforme embalagem, o que dificulta manter suas características sem a utilização de meios de conservação, comprovando os resultados dos autores citados a cima.

A relação entre as BAL e o pH tem sido investigada já a alguns anos em emulsões cárneas, vários estudos têm sido realizados com o objetivo de estender o prazo de validade de salsichas, quer por meio de reagentes químicos, por métodos físicos ou embalagens (FENG et al, 2013).

Para Borch et al (1996) a produção de ácido láctico produzido pelas BAL justifica a queda no valor de pH observado nas amostras no decorrer do tempo de estocagem.

De acordo com Jay (2005) a formação do *slime* superficial e a acidificação são produzidas pelas BAL, que no início apresentam colônias discretas e que mais tarde encobrem o produto em sua totalidade. Observou-se nesta pesquisa que essa formação de *slime* é favorecida por superfícies úmidas ocorrendo apenas na parte externa do produto.

Os defeitos mais comuns registrados nesses produtos observados por Price e Schweigert (1994), Norkowa (1978) e Franco (2005) no decorrer da estocagem são:

- Liberação de líquido: Proveniente do desequilíbrio entre os teores de água, gordura, proteínas solúveis, pode também ocorrer por serem adicionadas menores quantidades de carnes magras na formulação reduzindo a fonte de proteínas miofibrilares (emulsificantes). Esse líquido liberado poderá possibilitar o desenvolvimento de microrganismos que irão tornar o produto impróprio para o consumo.

- Coloração esverdeada: Resultado do desenvolvimento de microrganismos que produzem água oxigenada. Essa água oxigenada, ao reagir com os pigmentos da carne produz o pigmento verde responsável por este defeito. A pasteurização do produto ajudaria na redução deste problema.

- Perda de vácuo da embalagem: Pode ocorrer por presença de microfuros na embalagem ocasionados por selagem ou termoformagem mal feitas ou pelo desenvolvimento de BAL heterofermentativas que, ao produzir gás carbônico, provocam a perda do vácuo. As BAL heterofermentativas são resultantes da contaminação de superfícies. A higienização deve ser realizada seguindo as etapas necessárias para eliminação de microrganismos: remoção de resíduos, esfrega manual e/ou mecânica, enxágue e aplicação correta de sanitizante, fatores ajudam a manter as superfícies de contato nas áreas de produção com níveis aceitáveis de contaminação.

- Estufamento da embalagem: A produção de gás é o resultado da multiplicação de microrganismos aderidos à superfície da

linguiça, referenciando a contaminação do produto. Da mesma forma como já comentado acima trata-se de falhas de higienização. A utilização de ácidos orgânicos bem como pasteurização são eficazes neste caso.

- *Slime*: Formado geralmente, por BAL, que estão presentes em quase todo tipo de produto cárneo fresco ou curado, com crescimento também em temperaturas de refrigeração. Por ser um microrganismo não patogênico, não possui obrigatoriedade de análise pela legislação vigente, mas é hoje um dos principais deteriorantes desse produto.

As características citadas acima tornam o produto impróprio, pois são fatores de rejeição pelos consumidores.

A acidificação dos alimentos tem potencial para controlar bactérias, eliminando microrganismos que competem por nutrientes (SILVA et al, 2008). Com esse propósito foi utilizado o Regulador de acidez, atingindo níveis de pH compatíveis com as características das linguiças, obtendo resultados máximos de sobrevida de até 187 dias, de modo que o tempo de vida de 90 dias estipulado para o produto foi alcançado, este fator aliado a rotatividade comercial tende a diminuir muito as manifestações por presença de *slime*, deste produto no mercado.

Em pesquisa realizada com salsichas provenientes do varejo, houve inúmeras manifestações de consumidores relacionadas à perda de vácuo e presença de *slime*, os dados compilados da pesquisa foram do período de janeiro a julho de 2010, totalizando 47.287 Kg de produto devolvido para a indústria (DAUDT, 2013).

Levando em consideração os motivos das manifestações realizadas pelos consumidores, podemos ressaltar que a contaminação das linguiças curada cozidas embaladas à vácuo pelas BAL se deu pela capacidade termotolerante das mesmas e possivelmente por contaminação pós-tratamento térmico, durante o processo de embalagem e conservação na cadeia de comercialização.

Haja vista que o armazenamento a temperatura ambiente tem grande influência na deterioração das linguiças cozidas, no presente estudo foram testadas também amostras em temperatura de refrigeração atingindo resultados de sobrevivência acima de 90 dias.

Para as amostras que não sobreviveram os 90 dias, observou-se contagem de BAL acima de 10^6 UFC/g, apresentando aumento considerável de *slime*, ausência de vácuo do pacote e perda da cor original, estas características tornam o produto com a aparência desagradável sendo fator de rejeição para o consumidor, esta percepção

também esteve presente nos estudos de Borch et al (1996), Korkeala et al (1989) e Pothakos et al (2015).

Devido à composição rica em proteína e gordura, bem como alta atividade de água, o prazo de validade de muitos tipos de salsichas é bem reduzido, dificultando a cadeia de comercialização do alimento (FENG et al, 2013). Portanto, alimentos processados com formulações acrescidas de aditivos alimentares e tratamento térmico são uma tendência crescente na indústria de alimentos (ASURMENDI et al, 2015).

Segundo Terjung et al (2014), em salsichas o crescimento microbiano, especialmente pós-processamento, pode ser controlado através da adição de agentes antimicrobianos, porém a eficácia antimicrobiana depende de várias características do produto, tais como as concentrações de gordura, proteínas, carboidratos, sal e também o pH do produto. Pesquisas mostram que a gordura protege os microrganismos dos antimicrobianos, os quais precisam ser utilizados em maiores quantidades. A solubilidade também está sendo muito estudada pois é responsável por um produto ser mais ou menos homogêneo, e por este fato a atividade antimicrobiana pode ser reduzida devido aos microrganismos preferirem a fase aquosa do composto.

Diez et al (2009) estudaram os efeitos de sais de ácidos orgânicos em combinação com alta pressão hidrostática sobre a vida de prateleira de Morcillas cozidas de Burgos salsichas espanholas. Os resultados mostraram que efetivamente a combinação reduziu a população de enterobactérias e *Pseudomonas* inibindo o crescimento destes microrganismos e aumentando consideravelmente a vida de prateleira do produto.

A aplicação destes ácidos orgânicos reconhecido como seguros (GRAS), sobre superfícies de carne ou incluídos na massa crua de carne, principalmente por pulverização por imersão ou adicionados através de uma embalagem ativa dependendo do tipo de produto para ser aplicado, é uma prática bem conhecida e amplamente utilizada (AYMERICH, 2007; HUGO, 2015).

No trabalho em questão os ácidos orgânicos foram pulverizados na superfície do produto, tornando-se uma forma prática, fácil e segura de ser utilizada na indústria. Esta técnica auxilia a aplicação de antimicrobianos e parece ser o caminho mais aceito pela indústria e os consumidores de embutidos embalados à vácuo, que possuem tempo de vida útil curta (AYMERICH ET AL, 2007).

Terjung et al (2014) observou em seus estudos que a atividade de agentes antimicrobianos de solubilidades diferentes, testados em

salsichas, podem ser utilizados individualmente ou em combinações. Os resultados da pesquisa indicaram que combinações binárias são mais eficazes do que os antimicrobianos individuais e que a adição de um terceiro componente pode ainda melhorar a eficácia.

Existem vários estudos relacionados ao uso de ácidos orgânicos, porém não foram encontradas pesquisas relacionadas com a utilização da combinação dos ácidos orgânicos fracos, láurico, cítrico, láctico, acético e ascórbico.

O ácido láctico e os seus sais têm sido extensivamente utilizados em indústria de carne para aumentar o sabor e extensão de vida útil dos produtos (AYMERICH et al, 2007). Alguns ácidos orgânicos e seus sais tem sido utilizados para reduzir a carga microbiológica em carcaças e, assim, preservar a qualidade da carne fresca (WANG, 2000).

Entretanto, para Corlett Jr. e Brown (1980), citados por Silva et al. (2001), a ação antimicrobiana dos ácidos orgânicos na higienização de carnes resulta de sua ação lipofílica, durante a qual os íons de hidrogênio penetram a membrana celular do microrganismo, acidificando o seu interior e inibindo o transporte de nutrientes.

Na utilização de ácidos orgânicos em produtos de carne fresca segundo Mani-Lopez et al. (2012), alguns ácidos como ácido cítrico, precisam de pH baixo para que se tenha uma atividade antimicrobiana ótima. Já o ácido acético, acetatos, diacetatos, ácido desidroacético, ácido láctico e lactato são efetivos como antimicrobianos contra leveduras e bactérias em produtos lácteos, carnes e produtos derivados.

Todavia em estudos realizados por Mani-Lopez et al (2012), testaram a eficácia de ácidos orgânicos, concluindo que estes podem ter impactos negativos sobre cor e sabor do alimento, é necessário que seja realizada análise sensorial sempre que houver aplicação de um ácido orgânico.

No caso da pesquisa realizada com as linguças curadas cozidas as amostras do T1 apresentaram fixação da cor original até o fim da vida, esse aspecto foi comprovado pela análise físico-sensorial.

Kluge et al (2014), realizaram pesquisas com pimentões, submetidos a tratamento com ácido ascórbico a 1% e ácido cítrico a 1%. O ácido ascórbico comportou-se como uma excelente antioxidante, não houve diferença significativa entre o pH das amostras.

O ácido cítrico é conhecido como um agente quelante e um acidulante em sistemas biológicos, em estudos realizados por García-Soto et al (2014), com filés de peixe e peixe inteiro este ácido foi aplicado juntamente com ácido láctico no gelo utilizado na conservação

de peixes a bordo, onde foi relatado como sendo eficaz na preservação e também no aumento da vida de prateleira.

Neste sentido podemos dizer que, a redução significativa das BAL com a utilização dos ácidos orgânicos demonstrou a eficiência da formulação do mesmo, podemos também salientar que nas amostras onde se obteve resultados com log acima ou próximos de 10^6 UFC/g as amostras já haviam ultrapassado o tempo de vida de 90 dias do produto, completando 105, 127 e 131 dias de vida. A amostra que obteve resultado elevado de BAL no início da vida do produto, com 28 dias, provavelmente sofreu problemas de embalagem, como furos e defeitos de selagem devido a falhas operacionais, já que as outras amostras fabricadas no mesmo momento comportaram-se positivamente.

Para se obter um parâmetro da segurança alimentar envolvendo o produto pesquisado também foram realizados em complemento ao estudo ensaios microbiológicos de coliformes a 45°C, *Staphylococcus aureus*, clostrídios sulfito redutores, *Salmonella* sp de acordo com a RDC nº12 ANVISA (BRASIL, 2001), *Listeria monocytogenes* e *Listeria* sp, bolores e leveduras os quais não apresentaram qualquer alteração no decorrer da vida de prateleira, bem como nos ensaios físico-químicos de nitritos totais, atividade de água, NaCl e umidade também analisados.

4.2 ANALISE ESTATÍSTICA DE SOBREVIVENCIA

O limite crítico para aprovação ou reprovação das amostras foi definido físico-sensorialmente através de análise visual e por análises microbiológicas e físico-químicas respeitando o seguinte critério: presença de slime, $\text{pH} < 6,2$, contagem de bactérias lácticas $> 10^6$ UFC/g.

Os dados de sobrevivência foram extraídos da tabela 3 e as análises estatísticas realizadas pelo modelo probabilístico de Weibull, o qual determina o tempo de falha das amostras, e é muito utilizado em escala industrial (STRAPASSON, 2007).

A tabela 4 foi gerada através do papel de Weibull respeitando os critérios citados acima.

Tabela 4. Resultados gerados para T1 e T2 de acordo com os Parâmetros Estatísticos de Weibull

Parâmetros de Weibull	T1	T2
Tempo de vida característica	95,58 dias	65,21 dias
Tempo em que 10% das amostras podem apresentar falha	32,08 dias	30,29 dias
Tempo médio entre falhas	84,67 dias	58,18 dias
Desvio padrão	43,06 dias	21,56 dias
α	1,7 e – 0003	4,7 e – 0004
30 dias	8,76 % de falhas	9,73 % de falhas
60 dias	31,81% de falhas	54,29% de falhas
90 dias	58,65% de falhas	92,32% de falhas

α : Nível de significância do teste

Fonte: O autor

Na tabela 4 podemos observar que o tratamento T1 apresenta menor taxa de falhas comparado ao T2, sendo que o tempo de vida característica (tempo que em média deverão ocorrer falhas) no T2 é de 65,21 dias, e no T1 de 95,58 dias. Assim a ação da mistura orgânica utilizada teve efeito bactericida e bacteriostático principalmente sobre BAL, responsáveis pela deterioração das amostras avaliadas.

As taxas de falhas são semelhantes no tempo em que 10 % das amostras poderão apresentá-las, visto que os desvios do processo produtivo são uma constante ao longo do tempo e podem ser mais ou menos graves, como por exemplo, pacotes em que o vácuo não foi bem extraído, contaminações maiores ocorridas devido a falhas higiênicas, falha de selagem no pacote (propiciando entrada de ar), microfuros de

embalagens, etc. Nestes casos a eficiência de um tratamento com conservantes orgânicos é desafiada, e pode se comportar como as amostras do T2, ou seja, apresentando taxas de falhas num tempo menor, mas mesmo assim demonstrando certa eficácia no uso do conservante, como se observa na tabela 4, onde o tempo em que 10 % das amostras T2 apresenta falha é de 30,29 dias versus 32,08 do T1.

As amostras que continham o regulador de acidez (T1) se comportaram da seguinte forma: 01 a 30 dias de vida, 8,8% das amostras foram rejeitadas, de 01 a 60 dias de vida, 31,8% das amostras foram rejeitadas e de 01 a 90 dias de vida, 58,7% das amostras foram rejeitadas, isto é 41,3% das amostras alcançaram sobrevivência acima de 90 dias.

Já nas amostras controle (T2) de 01 a 30 dias, 9,7% das amostras foram rejeitadas, no tempo de vida de 01 a 60 dias, 54,2% das amostras foram rejeitadas e no tempo de vida de 01 a 90 dias 92,4% das amostras foram rejeitadas. Apenas 7,6% das amostras tiveram sobrevivência acima de 90 dias.

De acordo com os dados gerados pela indústria em relação a manifestações de clientes referente aos defeitos deste produto, o papel de Weibull mostrou-se como um espelho da prática ao expor os dados referentes as amostras T2 acima de 60 dias de vida, as quais não atingem os prazo de validade estipulado pelo mercado.

5 CONCLUSÃO

Concluiu-se que a vida de prateleira das linguiças curadas cozidas embaladas a vácuo tratadas superficialmente com o regulador de acidez, tiveram considerável aumento de forma segura com a utilização da mistura de ácidos orgânicos atingindo uma média de vida de 95 dias.

O regulador de acidez desenvolveu um papel muito importante em sua ação sob a superfície do produto, comprovando suas propriedades bactericidas e bacteriostáticas principalmente sobre as BAL, responsáveis pela deterioração das amostras avaliadas, tornando o produto com aparência desagradável sendo fator de rejeição para o consumidor.

Pode-se também acrescentar que a pesquisa confirmou através da análise estatística que as amostras controle (T2) apresentaram um tempo médio de vida de 65 dias não atingindo o tempo estipulado pelo mercado que é de 90 dias, corroborando assim com os dados da indústria e demonstrando a dificuldade de conservação do produto na cadeia de comercialização em temperatura ambiente sem a utilização de conservantes.

REFERÊNCIAS

ABIEPCS. **Associação Brasileira da Indústria Produtora e Exportadora de Carne Suína**. 2015. Disponível em: <<http://www.abiepcs.com.br>. Acesso em: 12/09/2015.

ALMEIDA A. L. F., Conservantes Químicos para Alimentos. **Food Ingredients Brasil**, 18, p. 43-49, 2011.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION – APHA. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. Washington, 2001, 676p.

AOAC. Association of Official Analytical Chemistry. **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemistry**. 18 ed. Arlington: Washington, 2010.

AOAC. Association of Official Analytical Chemistry. **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemistry**. 19 ed. Arlington: Washington, 2012.

ASURMENDI P.; GARCIA M. J.; PASCUAL L.; BARBERIS L. Biocontrol of *Listeria monocytogenes* by lactic acid bacteria isolated from brewer's grains used as feedstuff in Argentina. **Journal of Stored Products Research**, v. 61, p. 27-31, 2015.

AYMERICH T.; PICOUET P. A.; MONFORT J. M. Decontamination technologies for meat products. **Meat Science**, v.78, p. 114–129, 2008.

BARROS F. **Avaliações bromatológicas e microbiológicas de linguiças colonial suína e light**. 2011, 49f. TCC (Faculdade de Química industrial), Univates, Lageado, 2011.

BATISTELA P. M. D. **Análise de sobrevivência aplicada a estimativa da vida de prateleira de salsichas**. 2008, 115f. Dissertação (Universidade Federal de Santa Catarina), Ufsc, Florianópolis, 2008.

BEASLEY S. **Isolation, identification and exploitation of lactic acid bacteria from human and animal microbiota**. 2004, 57f. Dissertation

(Faculty of Agriculture and Forestry Sciences), University of Helsinki, Finlandia, 2004.

BENEDETTI S., BRUNGERA A., RIZATTI R., DICKEL E. L., BERTOLIN T. E. Substituição parcial de nitrito por antioxidantes e seu efeito sobre a cor de linguiça defumada. **Rev Inst Adolfo Lutz**, 70(3), p.296-301,2011.

BENEVIDES, S. D.; NASSU, R. T. **Produtos cárneos**. EMBRAPA, 2013. Disponível em: http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/ovinos_de_corte/arvore/CONT000g3izohks02wx5ok0tf2hbweqanedo.html>. Acesso em: 12/09/2015.

BORCH E.; KANT-MUEMANSB M. L.; BLIX Y. Bacterial spoilage of meat products and cured meat. **International Journal of Food Microbiology**, v.33, p.103-120, 1996.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa Nº 20. **Diário Oficial da União**, Brasília, 21 julho 1999.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa Nº 4. **Diário Oficial da União**, Brasília, 31 março 2000. Anexo IV: Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Salsicha.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agencia Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução RDC nº12 de 2 de janeiro de 2001. Regulamento técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial da União**. Brasília: 02 jan. 2001.

BRUL S., COOTE P. Preservative agents in foods Mode of action and microbial resistance mechanisms. **International Journal of Food Microbiology**. v. 50, p. 1–17, 1999.

CAMARGO R. J. **Ação de bacteriocinas de bactérias lácticas no controle de *Listeria Monocytogenes* e no aumento de vida de prateleira de mortadela fatiada**. 2011. 94 f. Tese (Doutorado em Ciências dos Alimentos), Faculdade de Ciências Farmacêuticas, USP, São Paulo, 2011.

CARNICER A. N., OLIVEIRA A. P., AMARAL J. F., ANDRIOLI L. G. R. **Monitoramento dos níveis de nitrito encontrado em linguças artesanais comercializadas em Lins/SP**. 2013, 41f. TCC (Faculdade de Química), Unisalesiano, Lins, 2013.

CAYRÉ M. E.; GARRO O.; VIGNOLO G. Effect of Storage Temperature and Gas Permeability of Packing Film on the Growth of Lactic Acid Bacteria and *Brochothrix thermosphacta* in Cooked Meat Emulsions. **Food Microbiology**, v. 22, p. 505-512, 2003.

COLOSIMO, E. A.; GIOLO, S. R. **Análise de Sobrevivência Aplicada**. 1ª Ed. São Paulo: Editora Edgard Blücher, 2006.

CROWLEY S.; MAHONY J.; SINDEREM D. Current perspectives on antifungal lactic acid bacteria as natural bio-preservatives. **Food Science & Technology**, v. 33, p. 93-109, 2013.

CUNHA K. D.; SILVA P. R.; COSTA A. L. F. S. F.; TEODORO A. J. Estabilidade de ácido ascórbico em sucos de frutas frescos sob diferentes formas de armazenamento. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 17, p. 139-145, 2014.

DAUDT R. B. **Redução da devolução de pacotes de salsicha tipo tradicional do varejo**. 2013, 57f. TCC (Faculdade Medicina Veterinária), Universidade do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2013.

DIEZ A. M.; E. M. SANTOS E. M.; JAIME I.; ROVIRA J. Application of organic acid salts and high-pressure treatments to improve the preservation of blood sausage. **Food Microbiology**, V.25, p.154-161, 2008.

DING X. J., XIE N., ZHAO S., WU Y., Li J., WANG Z. Simultaneous determination of ten preservatives in ten kinds of foods by micellar electrokinetic chromatography. **Food Chemistry**, 181, p. 207-214, 2015.

FELIPE L. **Associação de bactérias da família Enterobacteriaceae e Clostridium estertheticum com a deterioração "Blown Pack" em cortes cárneos embalados a vácuo**. 2008, 86f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária), UNESP, Jaboticabal, 2008.

FENG C.; SUN D.; MARTÍN J. F. G.; ZHANG Z. Effects of different cooling methods on shelf-life of cooked jumbo plain sausages. **LWT - Food Science and Technology**, v. 54, p. 426 – 433, 2013.

FENNEMA O. R.; DAMODARAN S.; PARKIN K. L. **Química de Alimentos de Fennema**. 4ª Ed. São Paulo: Artmed, 2010.

FLORES M., CORRAL S.; CANO-GARCIA L.; SALVADOR A.; BELLOCH C. Yeast strains as potential aroma enhancers in dry fermented sausages. **International Journal of Food Microbiology**, v. 212, p.16–24, 2015.

FRANCO, B. D. G. M.; LANDGRAF, M. **Microbiologia dos Alimentos**. São Paulo: Ateneu, 2005. 182p.

FRANZ, C; HOLY, A. Thermotolerance of meat spoilage lactic acid bacteria and their inactivation in vacuum-packaged vienna sausages. **Internacional Journal of Food Microbiology**, v. 29, p. 59-73, 1996.

GARCÍA-SOTO B.; FERNÁNDEZ-NO I.; BARROS-VELAZQUÉZ J.; AUBOURG, S. Use of citric and lactic acid in ice to enhance quality of two fish species during on-board chilled storage. **International Journal of Refrigeration**, v. 40, p. 390-397, 2014.

GUERREIRO L. **Dossiê Técnico - Produção de Salsicha**. Redetec – Rede de tecnologia do Rio de Janeiro. 2006, 42f. Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2006.

GUERREIRO M. **Estudo da microbiota de um produto cárneo cozido. Aplicação em duas tecnologias de embalagem: Vácuo e atmosfera modificada**. 2011, 83f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos), Universidade técnica de Lisboa, Lisboa, 2011.

GURTLE J. B., MAI T. L. **Preservatives| Traditional Preservatives – Organic Acids**. 2 Ed. Encyclopedia of Food Microbiology. p 119-130, 2014.

HUGO C. J.; HUGO A. Current trends in natural preservatives for fresh sausage products. **Trends in Food Science & Technology**, v. 45, p.12-23, 2015.

ISO INTERNACIONAL STANDARD. **Microbiology of Food and Animal Feeding Stuffs. Horizontal Methods for the Detection and Enumeration of *Listeria monocytogenes*** – Part 2: Enumeration Methods. ISO 11290-1. 2004.

ISO INTERNACIONAL STANDARD. **Microbiology of Food and Animal Feeding Stuffs. Horizontal Methods for the Detection of *Salmonella spp*** – Part 4: Enumeration Methods. ISO 6579. 2002.

JAY, James. **Microbiologia de Alimentos**. 6 Ed. São Paulo: Artmed, 2005. 711p.

KAMENÍK J., SALÁKOVÁ A., HULÁNKOVÁ R. H., BORILOVA G. The effect of high pressure on the microbiological quality and other characteristics of cooked sausages packed in a modified atmosphere or vacuum. **Food Control**, v. 57, p.232-237, 2015.

KINDERLERER J. L. Degradation of the Lauric Acid Oils. **International Biodeterioration & Biodegradation**, p.345 -354, 1994.

KLUGE R. A.; GEERDINK G. M.; ULIANA J. V. T.; GUASSI S. A. D.; ZORZETO T. Q.; SASAKI F. F. C.; MELLO S. C. Qualidade de pimentões amarelos minimamente processados tratados com antioxidantes. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 35, p. 801-812, 2014.

KORKEALA, H., ALANKO T., MAKELA P., LINDROTH S. Lactic acid and pH as indicators of spoilage for vacuum-packed cooked ring sausages. **International Journal of Food Microbiology**, 10, p. 245-254, 1989.

MACHADO G. C.; CHAVES J. B. P.; ANTONIASSI R. Composição em ácidos graxos e caracterização física e química de óleos hidrogenados de coco babaçu. **Revista Ceres**, v. 53 (308), p. 463-470, 2006.

MAN C. M. D., ADRIAN A. J. Shelf life evolution of food. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 36, p.855-856, 2001.

MANI-LÓPEZ E.; GARCÍA H. S.; LÓPEZ-MALO A. Organic acids as antimicrobials to control Salmonella in meat and poultry products. **Food Research International**, v.45, p.713–721, 2012.

MARTINS C. F. G. **Caracterização fenotípica e genotípica de bactérias do ácido acético isoladas de alimentos**. 2012, 99f. Dissertação (Mestrado em biotecnologia e qualidade alimentar), Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, Vila Real, 2012.

MARTINS, E. A. ***Listeria Monocytogenes* em produtos fatiados do tipo ready-to-eat, presunto cozido e salame, comercializados no município de São Paulo: ocorrência, quantificação e sorotipagem**. 2009, 76f. Tese (Doutorado da Faculdade de Saúde Pública) – Universidade São Paulo, São Paulo, 2009.

MATAGARAS M., SKANDAMIS P., NICHAS G. J. E. Modeling and predicting spoilage of cooked, cured meat products by multivariate analysis. **Meat Science**, 77, p.348-356, 2007.

MERGEN I. Z. **Estudo da perda de vácuo em embalagens plásticas multicamadas para produtos cárneos curados cozidos**. 2004, 132f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química), Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2004.

MOTTA E. S. Adição de ácido láctico e ácido cítrico como conservante da carne mecanicamente separada. 2013, 45f. TCC (Faculdade Tecnologia de Alimentos), Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Francisco Beltrão, 2013.

NOSKOWA, G. L. **Microbiologia de las Carnes Conservadas por el Frio**. Zaragoza (España): Acribia, 1978.437p.

OETTERER M., APARECIDA M., D'ARCE B. R., SPOTO M., H., F. **Fundamentos de Ciência e Tecnologia de Alimentos**. 1. Ed. São Paulo: Manole, 2006. 632p.

PALUMBO, S. A.; HUHTANEN, C. N.; SMITH, J. L. Microbiology of The Frankfurter Process: Salmonella and Natural Aerobic Flora. **Applied Microbiology**. 27 (4), p.724-732, 1974.

PARDI M. C. **Ciência, higiene e tecnologia da carne**. 2 Ed. Goiânia: UFG, 2001. p70.

PEREIRA, V. R. **Ácido Ascórbico – Características, mecanismos de atuação e aplicações na indústria**. 2008, 40f. TCC (Faculdade Bacharel em Química de Alimentos), Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2008.

PÉREZ-CHABELA, M. L.; TOTOSAUS, A.; GUERRERO, I. Evaluation of Thermotolerant Capacity of Lactic Acid Bacteria Isolated from Commercial Sausages and the Effects of their Addition on the Quality of Cooked Sausages. **Ciências e Tecnologia de Alimentos**. 28 (1), p.132-138, 2008.

POTHAKOS V.; DEVLIEGHERE F.; VILLANI F.; BJORKROTH J.; ERCOLINI D.; Lactic acid bacteria and their controversial role in fresh meat spoilage. **Meat Science**, v.109, p.66-74, 2015.

PRICE, J. F.; SCHWEIGERT, B. S. **Ciencia de la Carne y los Productos Carnicos**. 2 Ed. Zaragoza (España): Acribia, 1994. 592p.

RAMALHO, V; JORGE, N. Antioxidantes Utilizados em Óleos, Gorduras e alimentos Gordurosos. **Química Nova**, v.24, 2005.

ROÇA, R.O. **Tecnologia da carne e produtos derivados**. Botucatu: Faculdade de Ciências Agrônômicas, UNESP, 2000. 202p.

SAMELIS J.; KAKOURI A.; REMENTZIS J. Selective effect of the product type and the packaging conditions on the species of lactic acid bacteria dominating the spoilage microbial association of cooked meats at 4°C. **Food Microbiology**, v.17, p.329-340, 2000.

SARMENTO C. M. P. **Modelagem do crescimento microbiano e avaliação sensorial no estudo de vida de prateleira da mortadela e da linguiça defumada em armazenamento isotérmico e não isotérmico**. 2006, 162f. Tese (Doutorado Engenharia Química), Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2006.

SCETAR M., KOVACIC E., KUREK Mia, GALIC K. Shelf life of packaged sliced dry fermented sausage under different temperature. **Meat Science**, v. 93, p.802-809, 2013.

SECRETARIA DE ESTADO DA SAUDE. Instituto Adolfo Lutz. Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz. **Métodos químicos e físicos para análise de alimentos**. 4 Ed. Brasília, 2005. p-99.

SCHWERT R. **Avaliação do uso de fumaça líquida em linguiças tipo calabresa cozida e defumada**. 2014, 125 f. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos), Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões – URI, Erechim, 2014.

SILVA L. J. M. **Isolamento e caracterização bioquímica das bactérias do ácido láctico do queijo de São Jorge Dop**. 2011, 135f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia e Segurança Alimentar), Universidade do Açores, Angra do Heroísmo, 2011.

SILVA R. F.; LANNA E. A. T.; BONFIM M. A.D.; RIBEIRO F. B.; JUNIOR F. I. A.; NAVARRO R. D. Uso de ácidos orgânicos em dietas para Tilápia do Nilo. **Revista Ceres**, 55(4), p. 352-355, 2008.

SILVA J. A.; SOARES L. F.; COSTA E. L. Sanitização de Carcaças de Frango com Soluções de Ácidos Orgânicos Comerciais e Suco de Limão. **Revista Tec. Carnes. Campinas**, v.3, p.19-26, 2001.

STRAPASSON, E. 2007. **Comparação de Modelos com Censura Intervalar em Análise de Sobrevida**. Tese (Doutorado Estatística e Experimentação Agrônômica), Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2007.

TERJUNG.;N.; LOEFFLER, M.; GIBIS, M.; HINRICHS, J.; WEISS, J. Control of *listeria* in meat emulsions by combinations of antimicrobials of different solubilities. **Food Research International**, v.66, p.289–296, 2014.

TERRA N. N. **Apontamentos sobre tecnologia de carnes**. 1 Ed. São Leopoldo: Unisinos, 1998. 216p.

TERRA N. N.; TERRA A. B. M.; TERRA L. M. **Defeitos nos produtos cárneos: origens e soluções**. 1 Ed. São Paulo: Varela, 2004. 88p.

THIEMIG, F.; BUHR, H.; WOLF, G. 1998. **Charakterisierung der Haltbarkeit und des Verderbsverhaltens Frischer Lebensmittel**. Fleischwirtschaft. 78 (2), p 152-154.

TRINDADE, M. A; FELÍCIO, P. E.; CASTILHO, C. J. C. Mechanically separated meat of broiler breeder and white layer spent hens. **Scientia Agricola**. v. 61, p.234-239, 2004.

VERMEIREN, L.; DEVLIEGHERE F.; DEBEVERE J. Evaluation of meat born lactic acid bacteria as protective cultures for the biopreservation of cooked meat products. **International Journal of Food Microbiology**, v. 96, p.149-164, 2004.

WANG F. Effects of three preservative agents on the shelf life of vacuum packaged Chinese-style sausage stored at 20°C. **Meat Science**, v. 56, p.67-71, 2000.

ZDANSKI S. F. R. **Ácidos orgânicos e seus sais e nisina no controle de bactérias lácticas, aeróbias mesófilas e *Listéria Monocytogenes* em salsicha**. 2011, 63f. Dissertação (Mestrado Ciências e Tecnologia de Alimentos), Universidade de Santa Maria, Rio Grande do Sul, 2011.